



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113366313 A

(43) 申请公布日 2021.09.07

(21) 申请号 201980091030.9

(22) 申请日 2019.12.23

(30) 优先权数据

62/787,892 2019.01.03 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.08.02

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/068293 2019.12.23

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/142313 EN 2020.07.09

(71) 申请人 中尺度技术有限责任公司

地址 美国马里兰州

(72) 发明人 A·K·塔克-施瓦兹 G·西加尔

(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所
有限公司 11038

代理人 李程达

(51) Int.Cl.

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/543 (2006.01)

G01N 21/76 (2006.01)

G01N 27/26 (2006.01)

权利要求书7页 说明书49页 附图22页

(54) 发明名称

实施分析测量的组合物及方法

(57) 摘要

本公开提供用于执行分析的组合物、试剂、试剂盒、系统、系统组件及方法。更具体来说,本公开涉及一种用于检测发光的分析组合物,所述分析组合物包括烷基二乙醇胺,例如N-丁基二乙醇胺(BDEA)。在实施例中,所述分析组合物包括2-二丁基氨基乙醇(BDAE)。

1. 一种组合物,其包括:

(a) (i) N-丁基二乙醇胺 (BDEA) 或2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者, (ii) pH缓冲组分以及 (iii) 离子组分;或

(b) (i) N-丁基二乙醇胺 (BDEA) 或2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者, pH缓冲组分, (iii) 离子组分以及 (iv) 表面活性剂;或

(c) (i) N-丁基二乙醇胺 (BDEA) 或2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者, (ii) pH缓冲组分, (iii) 离子组分以及 (iv) 液体稀释剂;或

(d) (i) N-丁基二乙醇胺 (BDEA) 或2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者, pH缓冲组分, (iii) 离子组分; (iv) 表面活性剂以及 (v) 液体稀释剂。

2. 一种组合物,其基本上由以下组成:

(a) (i) N-丁基二乙醇胺 (BDEA) 或2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者, (ii) pH缓冲组分以及 (iii) 离子组分;或

(b) (i) N-丁基二乙醇胺 (BDEA) 或2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者, pH缓冲组分, (iii) 离子组分以及 (iv) 表面活性剂;或

(c) (i) N-丁基二乙醇胺 (BDEA) 或2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者, (ii) pH缓冲组分, (iii) 离子组分以及 (iv) 液体稀释剂;或

(d) (i) N-丁基二乙醇胺 (BDEA) 或2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者, pH缓冲组分, (iii) 离子组分; (iv) 表面活性剂以及 (v) 液体稀释剂。

3. 一种组合物,其由以下组成:

(a) (i) N-丁基二乙醇胺 (BDEA) 或2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者, (ii) pH缓冲组分以及 (iii) 离子组分;或

(b) (i) N-丁基二乙醇胺 (BDEA) 或2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者, pH缓冲组分, (iii) 离子组分以及 (iv) 表面活性剂;或

(c) (i) N-丁基二乙醇胺 (BDEA) 或2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者, (ii) pH缓冲组分, (iii) 离子组分以及 (iv) 液体稀释剂;或

(d) (i) N-丁基二乙醇胺 (BDEA) 或2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者, pH缓冲组分, (iii) 离子组分; (iv) 表面活性剂以及 (v) 液体稀释剂。

4. 根据权利要求1所述的组合物,其进一步包括以下中的至少一者:ECL标记、用于结合分析的结合试剂、防腐剂、杀生物剂、消泡剂、过氯酸盐化合物、着色剂、化学示踪剂、固体载体或其组合。

5. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述pH缓冲组分是参(羟甲基)氨基甲烷(Tris)。

6. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述pH缓冲组分是Tris且所述组合物包括表面活性剂。

7. 根据权利要求6所述的组合物,其中所述表面活性剂包括酚醚。

8. 根据权利要求7所述的组合物,其中所述表面活性剂是TRITON X-100。

9. 根据权利要求6所述的组合物,其中所述表面活性剂不包括酚醚。

10. 根据权利要求9所述的组合物,其中所述组合物不破坏脂质双层膜。

11. 根据权利要求10所述的组合物,其中所述表面活性剂是KOLLIPHOR P-407、

PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。

12. 根据权利要求11所述的组合物,其中所述表面活性剂为是TWEEN-20。

13. 根据权利要求11所述的组合物,其中所述表面活性剂是PEG (18) 十三基醚。

14. 根据权利要求1到4中任一项所述的组合物,其包括表面活性剂,所述表面活性剂不包括酚醚。

15. 根据权利要求14所述的组合物,其中所述组合物不破坏脂质双层膜。

16. 根据权利要求15所述的组合物,其中所述表面活性剂是KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或Tween 20。

17. 根据权利要求16所述的组合物,其中所述表面活性剂是TWEEN 20。

18. 根据权利要求16所述的组合物,其中所述表面活性剂是PEG (18) 十三基醚。

19. 根据权利要求14到18中任一项所述的组合物,其中所述pH缓冲组分是磷酸盐、HEPES、甘氨酸、甘氨酸、硼酸盐、醋酸盐或柠檬酸盐。

20. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述组合物包括BDEA。

21. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述组合物包括DBAE。

22. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中在存在所述组合物的情况下由ECL标记产生的ECL在18℃到30℃的温度范围内平均每℃变化小于1%。

23. 根据权利要求22所述的组合物,其中所述ECL是由邻近碳基电极的电化学发光钌有机金属复合物产生。

24. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述pH在约6与约9之间。

25. 根据权利要求24所述的组合物,其中所述pH在约7与约8之间。

26. 根据权利要求25所述的组合物,其中所述pH在约7.6与约7.9之间。

27. 根据权利要求26所述的组合物,其中所述pH是约7.8。

28. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中对于在存在所述组合物的情况下由ECL标记产生的ECL, ECL随pH变化的斜率小于每pH单位10%。

29. 根据权利要求28所述的组合物,其中所述ECL是由邻近碳基电极的电化学发光钌有机金属复合物产生。

30. 根据权利要求1到29中任一项所述的组合物,其中所述离子组分包括氯离子。

31. 根据权利要求30所述的组合物,其中所述离子组分包括NaCl、KCl、LiCl或所述盐中的任何两者或任何三者的组合。

32. 根据权利要求31所述的组合物,其中所述离子组分包括NaCl。

33. 根据权利要求31所述的组合物,其中所述离子组分包括KCl。

34. 根据权利要求1到33中任一项所述的组合物,其包括液体稀释剂。

35. 根据权利要求34所述的组合物,其中所述液体稀释剂是水且所述组合物大体上为水性的。

36. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中BDEA或DBAE的浓度在约10mM与约800mM之间。

37. 根据权利要求36所述的组合物,其中BDEA或DBAE的浓度在约75mM与约300mM之间。

38. 根据权利要求37所述的组合物,其中BDEA或DBAE的浓度在约100mM与约150mM之间。
39. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中BDEA或DBAE的浓度从标称值的0.8倍到1.2倍的变化提供了在存在所述组合物的情况下由ECL标记产生的ECL变化小于10%。
40. 根据权利要求39所述的组合物,其中所述ECL是由邻近碳基电极的电化学发光钌有机金属复合物产生。
41. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述pH缓冲组分的浓度在约10mM与约800mM之间。
42. 根据权利要求41所述的组合物,其中所述pH缓冲组分的浓度在约100mM与约300mM之间。
43. 根据权利要求42所述的组合物,其中所述pH缓冲组分的浓度在约150mM与约250mM之间。
44. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述组合物的离子强度大于约0.3M。
45. 根据权利要求44所述的组合物,其中所述组合物的离子强度大于约0.5M。
46. 根据权利要求45所述的组合物,其中所述组合物的离子强度大于约0.8M。
47. 根据权利要求46所述的组合物,其中所述组合物的离子强度大于约1.0M。
48. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述组合物包括氯离子且氯离子的浓度大于约0.25M。
49. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述组合物包括氯离子且氯离子的浓度大于约0.5M。
50. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述组合物包括氯离子且氯离子的浓度大于约0.75M。
51. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述组合物包括氯离子且氯离子的浓度大于约1.0M。
52. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述pH缓冲组分不为磷酸盐,且与含有磷酸盐作为所述pH缓冲组分的相同组合物相比,所述组合物提供由ECL标记产生的ECL增加至少20%和/或在不存在ECL标记的情况下产生的背景ECL减少至少20%。
53. 根据权利要求52所述的组合物,其中来自所述ECL标记的所述ECL是由邻近碳基电极的电化学发光钌有机金属复合物产生且/或在不存在ECL标记的情况下在碳基电极处产生ECL。
54. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中与不含离子组分的相同组合物相比,含有所述离子组分的所述组合物在免疫分析中的非特异性结合(NSB)较低。
55. 根据权利要求1到33中任一项所述的组合物,其中所述组合物不包含液体稀释剂且所述组合物以干燥形式提供。
56. 一种试剂盒,其在一或多个容器中包括以下材料:
- (a) N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;
 - (b) pH缓冲组分;以及
 - (c) 离子组分。
57. 根据权利要求56所述的试剂盒,其中所述材料中的一或多者呈干燥形式。

58. 根据权利要求57所述的试剂盒,其中所述试剂盒进一步包括液体稀释剂。
59. 根据权利要求56或57所述的试剂盒,其中所述试剂盒不包括表面活性剂或液体稀释剂。
60. 根据权利要求56或57所述的试剂盒,其中所述试剂盒进一步包括表面活性剂。
61. 一种用于生产组合物的方法,其包括合并
- (i) N-丁基二乙醇胺 (BDEA) 或2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者;
 - (ii) pH缓冲组分;以及
 - (iii) 离子组分。
62. 根据权利要求61所述的方法,其中所述材料中的一或多者呈干燥形式。
63. 一种试剂盒,其包括根据权利要求1到55中任一项所述的组合物,以及:
- (a) 分析仪器;
 - (b) 分析消耗品;
 - (c) 额外分析试剂;
 - (d) 分析样品;
- 或其组合。
64. 一种试剂盒,其包括根据权利要求56到60中任一项所述的试剂盒组分,以及:
- (a) 分析仪器;
 - (b) 分析消耗品;
 - (c) 额外分析试剂;
 - (d) 分析样品;
- 或其组合。
65. 根据权利要求63及64中任一项所述的试剂盒,其包括分析仪器,其中所述分析仪器经配置以进行ECL分析。
66. 根据权利要求63到65中任一项所述的试剂盒,其包括分析消耗品且进一步包括经配置以用于ECL分析中的电极。
67. 根据权利要求66所述的试剂盒,其中所述电极是碳基电极。
68. 根据权利要求67所述的试剂盒,其中所述电极是网版印刷的碳墨电极。
69. 根据权利要求63到68中任一项所述的试剂盒,其包括额外分析试剂,其中所述额外分析试剂是结合试剂。
70. 根据权利要求69所述的试剂盒,其中所述结合试剂用ECL标记来标记。
71. 根据权利要求70所述的试剂盒,其中所述标记是有机金属钌复合物。
72. 根据权利要求66到68中任一项所述的试剂盒,其包括额外分析试剂,其中所述额外分析试剂是结合试剂且所述额外分析试剂经固定于所述电极上。
73. 根据权利要求66到68中任一项所述的试剂盒,其包括额外分析试剂,其中所述额外分析试剂是以阵列形式固定于所述电极上的多种结合试剂。
74. 根据权利要求66到68中任一项所述的试剂盒,其包括额外分析试剂,其中所述额外分析试剂是固定于粒子上的结合试剂。
75. 根据权利要求74所述的试剂盒,其中所述粒子是可磁性收集的。

76. 根据权利要求64到75中任一项所述的试剂盒,其包括至少一种分析样品,其中所述至少一种分析样品包含分析校准样品和/或分析对照样品。

77. 一种用于产生ECL的方法,其包括:

- (a) 使电极与
 - (i) 根据权利要求1到56中任一项所述的组合物,及
 - (ii) ECL标记接触;
- (b) 将电压施加到所述电极;以及
- (c) 产生ECL。

78. 根据权利要求77所述的方法,其进一步包括:

- (d) 测量所述ECL。

79. 一种用于测量ECL标记的量的方法,其包括:

- (a) 使电极与
 - (i) 根据权利要求1到55中任一项所述的组合物,及
 - (ii) 所述ECL标记接触;
- (b) 将电压施加到所述电极;
- (c) 产生ECL;
- (d) 测量所述ECL;以及
- (e) 根据经测量的ECL确定所述标记的量。

80. 一种用于测量结合复合物的量的方法,所述结合复合物包括连接到ECL标记的结合试剂,所述方法包括:

- (a) 使电极上的固定化结合试剂与包括ECL标记的标记结合试剂接触;
- (b) 在所述电极上形成包括所述固定化结合试剂和所述标记结合试剂的结合复合物;
- (c) 使所述电极上的所述结合复合物与根据权利要求1到55中任一项所述的组合物接触;
- (d) 在存在所述组合物的情况下将电压施加到所述电极;
- (e) 产生ECL;以及
- (f) 测量所述ECL以确定所述电极上的所述结合复合物的量。

81. 根据权利要求80所述的方法,其中所述方法进一步包括在形成所述结合复合物之后且在使所述电极与所述组合物接触之前和/或期间洗涤所述电极。

82. 一种用于测量结合复合物的量的方法,所述结合复合物包括连接到ECL标记的结合试剂,所述方法包括:

- (a) 使粒子上的固定化结合试剂与包括ECL标记的标记结合试剂接触;
- (b) 在所述粒子上形成包括所述固定化结合试剂和所述标记结合试剂的结合复合物;
- (c) 使所述粒子上的所述结合复合物与根据权利要求1到55中任一项所述的组合物接触;
- (d) 将所述粒子收集于电极上;
- (e) 在存在所述组合物的情况下将电压施加到所述电极;
- (f) 产生ECL;以及
- (g) 测量所述ECL以确定所述电极上的所述结合复合物的量。

83. 根据权利要求82所述的方法, 其中所述粒子是可磁性收集的粒子且使用磁场将所述粒子收集于所述电极上。

84. 根据权利要求82或请求项83所述的方法, 其中所述方法进一步包括在形成所述结合复合物之后且在使所述粒子与所述组合物接触之前和/或期间洗涤所述粒子。

85. 根据权利要求80到84中任一项所述的方法, 其中所述固定化结合试剂和标记结合试剂彼此直接地结合。

86. 根据权利要求80到84中任一项所述的方法, 其中所述固定化结合试剂和标记结合试剂通过其它结合物质彼此间接地结合。

87. 一种用于测量分析物的量的方法, 所述方法包括:

(a) 使电极上的固定化结合试剂与包括ECL标记和所述分析物(或包括所述分析物的样品)的标记结合试剂接触;

(b) 在所述电极上形成包括所述固定化结合试剂和所述标记结合试剂的结合复合物;

(c) 使所述电极上的所述结合复合物与根据权利要求1到55中任一项所述的组合物接触;

(d) 在存在所述组合物的情况下将电压施加到所述电极;

(e) 产生ECL; 以及

(f) 测量所述ECL以确定所述分析物的量。

88. 根据权利要求87所述的方法, 其中所述方法进一步包括在形成所述结合复合物之后且在使所述电极与所述组合物接触之前和/或期间洗涤所述电极。

89. 根据权利要求87或88所述的方法, 其中所述方法经配置以实施多种分析物的多重测量, 且在所述电极上已固定有所述多种分析物的固定化结合试剂阵列。

90. 一种用于测量分析物的量的方法, 所述方法包括:

(a) 使粒子上的固定化结合试剂与包括ECL标记和分析物(或包括所述分析物的样品)的标记结合试剂接触;

(b) 在所述粒子上形成包括所述固定化结合试剂和所述标记结合试剂的结合复合物;

(c) 使所述粒子上的所述结合复合物与根据权利要求1到55中任一项所述的组合物接触;

(d) 将所述粒子收集于电极上;

(e) 在存在所述组合物的情况下将电压施加到所述电极;

(f) 产生ECL; 以及

(g) 测量所述ECL以确定所述分析物的量。

91. 根据权利要求90所述的方法, 其中所述粒子是可磁性收集的粒子且使用磁场将所述粒子收集于所述电极上。

92. 根据权利要求90或请求项91所述的方法, 其中所述方法进一步包括在形成所述结合复合物之后且在使所述粒子与所述组合物接触之前和/或期间洗涤所述粒子。

93. 根据权利要求80到86中任一项所述的方法, 其中所述固定化结合试剂和所述标记结合试剂包括: (i) 关注分析物的结合配偶体, (ii) 所述关注分析物或其类似物和/或竞争者, 或(iii) 能够与物质(i)或(ii)结合的反应性组分。

94. 根据权利要求87到92中任一项所述的方法, 其中所述固定化结合试剂和所述标记

结合试剂包括：(i) 所述分析物的结合配偶体，(ii) 所述分析物或其类似物和/或竞争者，或(iii) 能够与物质(i) 或(ii) 结合的反应性组分。

95. 根据权利要求77到94中任一项所述的方法，其中所述电极是碳基电极。

96. 根据权利要求95所述的方法，其中所述电极是网版印刷的碳墨电极。

97. 根据权利要求77到96中任一项所述的方法，其中所述ECL使用摄影机来成像。

98. 根据权利要求77到97中任一项所述的方法，其中所述ECL使用光电二极管来测量。

99. 根据权利要求77到98中任一项所述的方法，其中所述电极处于多孔板分析消耗品中。

100. 根据权利要求77到98中任一项所述的方法，其中所述电极处于流通槽中。

101. 根据权利要求77到98中任一项所述的方法，其中所述电极是铂。

102. 根据权利要求1到55中任一项所述的组合物，其中所述表面活性剂的浓度在约0.2mM与约10mM之间。

103. 根据权利要求102所述的组合物，其中所述表面活性剂的浓度在约0.5mM与约8mM之间。

104. 根据权利要求103所述的组合物，其中所述表面活性剂的浓度在约1.0mM与约5mM之间。

105. 根据权利要求1到55中任一项所述的组合物，其中所述表面活性剂的浓度大于所述表面活性剂的临界微胞浓度(cmc)。

106. 根据权利要求60或63到76中任一项所述的试剂盒，其中所述表面活性剂的浓度在约0.2mM与约10mM之间。

107. 根据权利要求106所述的试剂盒，其中所述表面活性剂的浓度在约0.5mM与约8mM之间。

108. 根据权利要求107所述的试剂盒，其中所述表面活性剂的浓度在约1.0mM与约5mM之间。

109. 根据权利要求60或63到76中任一项所述的试剂盒，其中所述表面活性剂的浓度大于所述表面活性剂的临界微胞浓度(cmc)。

110. 根据权利要求77到101中任一项所述的方法，其中所述表面活性剂的浓度在约0.2mM与约10mM之间。

111. 根据权利要求110所述的方法，其中所述表面活性剂的浓度在约0.5mM与约8mM之间。

112. 根据权利要求111所述的方法，其中所述表面活性剂的浓度在约1.0mM与约5mM之间。

113. 根据权利要求77到101中任一项所述的方法，其中所述表面活性剂的浓度大于所述表面活性剂的临界微胞浓度(cmc)。

实施分析测量的组合物及方法

技术领域

[0001] 本申请涉及用于分析,尤其用于电化学发光分析的组合物及使用其的方法。参考美国专利第6,919,173号;第7,288,410号;第7,491,540号及第8,785,201号,其中的各者以引用的方式并入本文中。

背景技术

[0002] 存在大量利用电化学发光 (ECL) 进行分析性测量的可商购仪器。ECL 标记的实例包含: i) 发光有机金属化合物,例如含有 Ru、Os、Ir、Re 或镧系金属的化合物,例如参联吡啶基-钌 (RuBpy) 部分; ii) 鲁米诺 (luminol) 及相关的化合物以及 iii) 贵金属纳米簇,例如通式是 $Au_n(SR)_m$ 的金纳米簇,其中 n 和 m 是整数 (例如, n 和 m 在 18 与 144 之间)。在 ECL 方法中以 ECL 标记参与的物质在本文中称为 ECL 共反应物。常用共反应物包含三级胺 (例如,参见美国专利第 5,846,485 号,其以引用的方式并入本文中)、草酸盐及来自 RuBpy 的用于 ECL 的过硫酸盐以及来自鲁米诺的用于 ECL 的过氧化氢 (参见例如美国专利第 5,240,863 号)。由 ECL 标记产生的光可在诊断程序中用作报导信号 (Bard 等人,美国专利第 5,238,808 号)。举例来说, ECL 标记可共价偶合到结合试剂,例如抗体、抗原、核酸、受体、配位体或小分子;可通过测量从 ECL 标记发出的 ECL 来监测结合试剂在结合交互作用中的参与。可替代地,来自 ECL 活性化合物的 ECL 信号可指示化学环境 (参见例如,美国专利第 5,641,623 号,其描述监测 ECL 共反应物的形成或分解的 ECL 分析)。关于 ECL、ECL 标记、ECL 分析及用于进行 ECL 分析的仪器的更多背景,参见美国专利第 5,093,268 号;第 5,147,806 号;第 5,324,457 号;第 5,591,581 号;第 5,597,910 号;第 5,641,623 号;第 5,643,713 号;第 5,679,519 号;第 5,705,402 号;第 5,846,485 号;第 5,866,434 号;第 5,786,141 号;第 5,731,147 号;第 6,066,448 号;第 6,136,268 号;第 5,776,672 号;第 5,308,754 号;第 5,240,863 号;第 6,207,369 号及第 5,589,136 号以及公开 PCT 第 W099/63347 号;第 W000/03233 号;第 W099/58962 号;第 W099/32662 号;第 W099/14599 号;第 W098/12539 号;第 W097/36931 号及第 W098/57154 号。

[0003] 可商购的 ECL 仪器已展现良好性能。由于包含其敏感度、动态范围、精确度及复杂样品基质的耐受性的原因,其已经得到广泛使用。数种类型的商购仪器可用于实施基于 ECL 的测量 (Debad, J.D., 等人, 2004.《ECL 在电化学发光中的临床及生物学应用 (Clinical and Biological Applications of ECL, in: Electrogenenerated Chemiluminescence)》. Marcel Dekker, 第 43-78 页.)。已公开经配置以对珠粒实施结合分析,且包含用于将珠粒收集于电极上以诱导 ECL 的流通槽的仪器 (美国专利第 5,935,779 号及第 5,993,740 号)。还公开使用固定于用以诱导 ECL 的电极上的试剂的 ECL 仪器 (参见例如,美国专利第 6,140,045 号;第 6,066,448 号;第 6,090,545 号;第 6,207,369 号及公开 PCT 申请第 W098/12539 号)。另外还公开具有适用于此类 ECL 测量的集成电极的多孔板 (参见例如,美国专利第 6,977,722 号及第 7,842,246 号,其以引用的方式并入本文中)。另外还公开具有用于 ECL 测量的电极的料筒 (例如, US 2012/0190589 及 US 2012/0178091)。

[0004] 当前,含有 ECL 共反应物三丙胺 (TPA) 的试剂可用于增强从 ECL 标记产生光。申请人

已发现此类组件具有显著的缺陷。

发明内容

[0005] 本公开涉及用于执行分析的组合物、试剂、试剂盒、系统、系统组件及方法。在实施例中，本公开涉及一种用于诱导发光的分析组合物，所述组合物包括烷基二乙醇胺。在实施例中，烷基二乙醇胺具有式 $(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}-\text{CHR}^1-\text{CHR}^2-\text{CHR}^3-\text{R}^4$ ，其中 R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各自独立地是 $-\text{H}$ 、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 或 $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 。在实施例中， R^1 、 R^2 及 R^3 是 $-\text{H}$ 且 R^4 是 $-\text{H}$ 或 $-\text{CH}_3$ 。在实施例中，本公开涉及一种用于诱导发光的分析组合物，所述组合物包括 N -丁基二乙醇胺 (BDEA) 或 2-二丁基氨基乙醇 (DBAE)。在实施例中，所述组合物包括 BDEA。

[0006] 在实施例中，本公开提供一种组合物，其包括： N -丁基二乙醇胺 (BDEA) 或 2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者； pH 缓冲组分以及离子组分。在实施例中，本公开提供一种组合物，其包括： N -丁基二乙醇胺 (BDEA) 或 2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者； pH 缓冲组分；离子组分以及表面活性剂。在实施例中，本公开提供一种组合物，其包括： N -丁基二乙醇胺 (BDEA) 或 2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者； pH 缓冲组分；离子组分以及液体稀释剂。在实施例中，本公开提供一种组合物，其包括： N -丁基二乙醇胺 (BDEA) 或 2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者； pH 缓冲组分；离子组分；表面活性剂以及液体稀释剂。

[0007] 在实施例中，本公开提供一种组合物，其基本上由以下组成： N -丁基二乙醇胺 (BDEA) 或 2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者； pH 缓冲组分以及离子组分。在实施例中，本公开提供一种组合物，其基本上由以下组成： N -丁基二乙醇胺 (BDEA) 或 2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者； pH 缓冲组分；离子组分以及表面活性剂。在实施例中，本公开提供一种组合物，其基本上由以下组成： N -丁基二乙醇胺 (BDEA) 或 2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者； pH 缓冲组分；离子组分以及液体稀释剂。在实施例中，本公开提供一种组合物，其基本上由以下组成： N -丁基二乙醇胺 (BDEA) 或 2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者； pH 缓冲组分；离子组分；表面活性剂以及液体稀释剂。

[0008] 在实施例中，本公开提供一种组合物，其由以下组成： N -丁基二乙醇胺 (BDEA) 或 2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者； pH 缓冲组分以及离子组分。在实施例中，本公开提供一种组合物，其由以下组成： N -丁基二乙醇胺 (BDEA) 或 2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者； pH 缓冲组分；离子组分以及表面活性剂。在实施例中，本公开提供一种组合物，其由以下组成： N -丁基二乙醇胺 (BDEA) 或 2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者； pH 缓冲组分；离子组分以及液体稀释剂。在实施例中，本公开提供一种组合物，其由以下组成： N -丁基二乙醇胺 (BDEA) 或 2-二丁基氨基乙醇 (DBAE) 或两者； pH 缓冲组分；离子组分；表面活性剂以及液体稀释剂。

[0009] 在一些实施例中，本公开的组合物进一步包括 ECL 标记；用于结合分析的结合试剂；防腐剂；杀生物剂；消泡剂；过氯酸盐化合物；着色剂；化学示踪剂；固体载体；或其组合。

[0010] 在一些实施例中，在存在本文中所描述的组合物的情况下，由 ECL 标记产生的 ECL 在 18°C 到 30°C 的温度范围内平均每 $^\circ\text{C}$ 变化小于 1%。在一些实施例中，对于在存在组合物的情况下由 ECL 标记产生的 ECL，ECL 随 pH 变化的斜率小于每 pH 单位 10%。在一些实施例中，ECL 共反应物的浓度从标称值的 0.8 倍到 1.2 倍的变化提供了在存在本文中所描述的组合物的情况下由 ECL 标记产生的 ECL 变化小于 10%。在一些实施例中，ECL 由邻近碳基电极的电化学发光钌有机金属复合物产生。

[0011] 在额外实施例中,本公开提供一种试剂盒,其在一或多个容器中包括以下材料:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分以及离子组分。

[0012] 在一些实施例中,本公开的试剂盒包括本文中所描述的组合物及分析仪器、分析消费品、额外分析试剂、分析样品或其组合。在一些实施例中,分析仪器经配置以进行ECL分析。

[0013] 在其它实施例中,本公开提供一种用于生产组合物的方法,所述方法包括将以下合并:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分以及离子组分。

[0014] 在实施例中,本公开提供一种用于产生ECL的方法,所述方法包括使电极与本文中所描述的组合物及ECL标记接触;将电压施加到电极;以及产生ECL。

[0015] 在实施例中,本公开提供一种用于测量ECL标记的量的方法,所述方法包括使电极与本文中所描述的组合物及ECL标记接触;将电压施加到电极;产生ECL;测量ECL;以及根据所测量的ECL确定标记的量。

[0016] 在实施例中,本公开提供一种用于测量结合复合物的量的方法,所述结合复合物包括连接到ECL标记的结合试剂,所述方法包括使电极上的固定化结合试剂与包括ECL标记的标记结合试剂接触;在电极上形成包括固定化结合试剂和标记结合试剂的结合复合物;使电极上的结合复合物与如本文中所描述的组合物接触;在存在组合物的情况下将电压施加到电极;产生ECL;以及测量ECL以确定电极上的结合复合物的量。

[0017] 在实施例中,本公开提供一种用于测量结合复合物的量的方法,所述结合复合物包括连接到ECL标记的结合试剂,所述方法包括使粒子上的固定化结合试剂与包括ECL标记的标记结合试剂接触;在粒子上形成包括固定化结合试剂和标记结合试剂的结合复合物;使粒子上的结合复合物与如本文中所描述的组合物接触;将粒子收集于电极上;在存在组合物的情况下将电压施加到电极;产生ECL以及测量ECL以确定电极上的结合复合物的量。

[0018] 在实施例中,本公开提供一种用于测量分析物的量的方法,所述方法包括:使电极上的固定化结合试剂与包括ECL标记及分析物(或包括分析物的样品)的标记结合试剂接触;在电极上形成包括固定化结合试剂和标记结合试剂的结合复合物;使电极上的结合复合物与如本文中所描述的组合物接触;在存在组合物的情况下将电压施加到电极;产生ECL;以及测量ECL以确定分析物的量。

[0019] 在实施例中,本公开提供一种用于测量分析物的量的方法,所述方法包括:使粒子上的固定化结合试剂与包括ECL标记及分析物(或包括分析物的样品)的标记结合试剂接触;在粒子上形成包括固定化结合试剂和标记结合试剂的结合复合物;使粒子上的结合复合物与如本文中所描述的组合物接触;将粒子收集于电极上;在存在组合物的情况下将电压施加到电极;产生ECL;以及测量ECL以确定分析物的量。

附图说明

[0020] 图1A展示电极表面上的经ECL标记的试剂的特定ECL信号,且图1B展示在存在含有BDEA、DBEA或TPA共反应物的ECL读取缓冲液的情况下,在存在或不存在TRITON X-100的情况下产生ECL时,在不存在标记试剂的情况下的背景ECL信号。图1C还展示改变读取缓冲液中的pH缓冲组分的影响。

[0021] 图2A及图2B展示通过一组多重ECL夹心免疫分析产生的特定信号及背景信号。图2A将在存在含BDEA的共反应物组合物的情况下产生的信号与通过常规的含TPA的共反应物组合物产生的那些信号进行比较；且图2B将在存在含有高含量盐的含BDEA的共反应物组合物产生的信号与通过常规的含TPA的共反应物组合物产生的那些信号进行比较。

[0022] 图3A到图3F展示组成及环境变化源对在存在含有BDEA及TPA的ECL读取缓冲液的情况下所产生的特定ECL信号和ECL背景信号的影响，所述影响包含读取缓冲液pH的影响(图3A)、在ECL产生期间读取缓冲液温度的影响(图3B)、共反应物浓度和表面活性剂存在或不存在的影响(图3C)、稀释或浓缩读取缓冲液内的所有成分的影响(图3D)、读取缓冲液温度和pH的影响(图3E)及在不同读取缓冲液温度及pH下的背景变化%(图3F)。

[0023] 图4展示电压波形及持续时间对在存在含有BDEA及TPA的读取缓冲液的情况下产生的特定ECL信号和ECL背景信号的影响。

[0024] 图5A展示一组非离子表面活性剂的化学结构，且图5B展示用这些表面活性剂制备的读取缓冲液的液体/空气界面张力(以达因/厘米为单位)。

[0025] 图6A展示特定ECL信号的比较，且图6B展示ECL背景信号的比较，所述信号使用含有BDEA但具有不同表面活性剂的读取缓冲液来产生。

[0026] 图7展示来自表达CD9表面蛋白质的细胞外囊泡的ECL夹心免疫分析的ECL信号且比较使用包含不同表面活性剂的不同含BDEA的读取缓冲液测量的信号，且对于各读取缓冲液，将添加读取缓冲液后立即测量的信号(T=0)与在测量信号之前将分析产物在读取缓冲液中培育15分钟时测量的信号(T=15)进行比较。

[0027] 图8展示来自表达CD9表面蛋白质的细胞外囊泡(EV)的ECL夹心免疫分析的ECL信号，且比较使用包含不同浓度的TWEEN 20或PEG (18) 十三基醚(PEG18TDE)的不同含BDEA的读取缓冲液测量的信号。测试四种不同浓度的EV。

[0028] 图9A到图9D展示在分析物sRange(图9A)、IL-9(图9B)、Kim-1(图9C)及MIG(图9D)的抗体筛选期间，使用BDEA或TPA读取缓冲液的平均ECL损失%。

[0029] 图10A到图10C展示在使用BDEA或TPA读取缓冲液的多重分析中分析物IL-13(图10A)、MDC(图10B)及TNF- β (图10C)的特异性ECL信号%及非特异性ECL信号%。

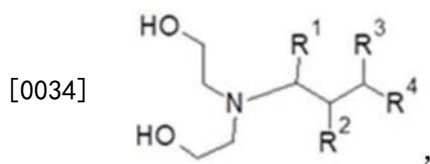
[0030] 图11A展示使用具有不同浓度的TRITON X-100的BDEA或TPA读取缓冲液的EV分析中的ECL信号变化。图11B展示用两种不同批次的非TRITON BDEA读取缓冲液测试已知浓度的EV的滴定曲线。

具体实施方式

[0031] 本公开以及其额外目标、特征及优势将根据某些实施例的以下详细描述而更充分地理解。

[0032] 如本文中所描述，ECL共反应物三丙胺(TPA)具有某些缺陷。举例来说，TPA具有低水溶性，此会导致制造困难，且其是易挥发的且具有令人不快的臭味。因此，本发明人开始确定是否有可能发现其中用另一ECL共反应物替换TPA的调配物。

[0033] 在实施例中，本发明提供ECL共反应物试剂及调配物，其包含下式(HOCH₂CH₂)₂N-CHR¹-CHR²-CHR³-R⁴的烷基二乙醇胺：



[0035] 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各自独立地是-H、-CH₃、-CH₂CH₃或-CH(CH₃)₂。在实施例中, R^1 、 R^2 、 R^3 各自是-H且 R^4 =-CH₃ (BDEA)。在实施例中, R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各自是H。

[0036] 本发明包含试剂及调配物,其包含作为ECL共反应物的BDEA或DBAE,优选地BDEA,从而提供使用TPA作为ECL共反应物的替代方案。这些共反应物是高度水溶性、非挥发性的且几乎无臭味,因此解决了TPA的主要局限性。本发明人发现含有新的共反应物的优选组合物,其能够提供与含TPA的组合物相当的ECL信号产生,同时还使分析背景信号最小化。本发明的组合物还提供优于常规的含TPA的组合物的额外出人意料的优势,所述优势包含:(i) ECL信号对共反应物组分的批次间变化(例如痕量污染物水准的变化)不太敏感;(ii) ECL信号还对pH、温度及盐浓度的变化不太敏感;(iii) ECL信号对表面活性剂的存在或不存在不敏感,且与含TPA的组合物不同,不需要存在刺激性芳香族表面活性剂,例如TRITON X-100(其可破坏某些分析物,尤其包括脂质膜的分析物)以产生最优信号以及(iv)减少ECL信号损耗,其指示分析物与结合试剂之间的解离速率降低。相反地,这些出人意料的益处在进行分析时提供与含TPA的组合物相比更强的对制造中的批次间可变性及测量间可变性来源的稳固性。在本领域中高度需要减少这些分析可变性的来源。参见例如Lee等人,2006。此外,对存在表面活性剂的出人意料的低敏感性允许调整表面活性剂组成及浓度以达成特定期望属性,例如控制溶液表面张力及半月板形状以及控制保留或破坏分析混合物中的组分缔合的能力。

[0037] 本发明包含:(i)如本文中所描述的组合物;(ii)分析试剂,其包含这些组合物的组分中的一或多者;(iii)试剂盒,其含有这些组合物或试剂及任选地其它分析组分中的一者以及(iv)方法,其利用这些组合物、试剂和/或试剂盒以实施ECL方法或测量。

[0038] 在本文中的论述及权利要求书中,修饰所采用的本发明的成分或反应物的量的术语“约”是指可例如通过用于在现实世界中制造浓缩物或使用溶液的典型测量和液体处理程序;通过这些程序中的无意错误;通过用于制造组合物或实施方法的成分的制造、来源或纯度的差异以及其类似者而发生的数值量偏差。术语“约”还涵盖由于特定初始混合物产生的组合物的不同平衡条件而不同的量。无论是否由术语“约”修饰,权利要求书都包含所述量的等效物。在一个实施例中,术语“约”意味在所报导数值的10%以内,优选地在所报导数值的5%以内。

[0039] 如本文中所使用,除非另外说明,否则含有通过术语“或”连接的组分的组合物涵盖具有所述组分的组合的组合物。举例来说,包括“x”、“y”或“z”的组合物包含(但不限于)包括“x”、“y”及“z”;“x”及“y”;“x”及“z”;以及“y”及“z”的组合物。

[0040] 如本文中所使用,术语“大体上(substantially/substantial)”在使用时同样可适用于负面含义中以指代完全或接近完全缺乏作用、特征、特性、状态、结构、项目或结果。举例来说,“大体上”平坦的表面将是完全平坦或非常接近平坦使得效果将与其完全平坦时相同。

[0041] 如本文中所使用,例如“一(a/an)”及“所述(the)”的术语并不打算仅指代单个实

体,而是包含其中具体实例可用于说明的通用类别。

[0042] 本文中对任何数值范围的参考明确包含由所述范围涵盖的各数值(包含分数及整数)。举例来说,本文中对范围“至少50”或“至少约50”的参考包含整数50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60等以及分数50.1、50.2、50.3、50.4、50.5、50.6、50.7、50.8、50.9等。在另一说明中,本文中对范围“小于50”或“小于约50”的参考包含整数49、48、47、46、45、44、43、42、41、40等以及分数49.9、49.8、49.7、49.6、49.5、49.4、49.3、49.2、49.1、49.0等。在又另一说明中,本文中对范围“5到10”的参考包含整数5、6、7、8、9及10以及分数5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9等。

[0043] 可诱导以发出ECL的物质可称为ECL活性物质或具有ECL活性。其还可称为ECL活性物质、ECL部分、ECL标记、ECL标记化合物或ECL标记物质等。当在根据本公开的某些组合物、试剂、试剂盒、方法或系统实施例中利用时,这些ECL活性物质在本公开的范围内,所述ECL活性物质与其它分子连接,且尤其与生物化学或生物分析的组分(例如分析物或其类似物、分析物或其类似物的结合配偶体、此类结合配偶体的另一结合配偶体,或能够与分析物、其类似物或如本文中所提及的结合配偶体结合的反应性组分)连接。本文中描述的ECL活性物质还可与一或多种结合配偶体和/或一或多种反应性组分的组合连接。在某些酶分析中,ECL活性物质可与酶基质连接。在激发ECL的测量的上下文中,ECL活性物质可描述为“结合”或“游离”。在此上下文中,“结合”是指保持在用于诱导ECL的电极附近的ECL活性物质,例如直接固定于电极上,通过与固定于电极上的其它物质的结合交互作用而固持,且存在于已收集于电极的表面上的珠粒表面上的物质。相比之下,在此上下文中,“游离”是指在与电极接触的大量液体介质中自由扩散的标记,所述液体介质例如含有ECL活性物质的溶液、悬浮液或乳液。

[0044] 类似地,在下文有时是“ECL组合物”或“系统”的前述“组合物”含有在ECL反应过程中形成的不稳定、介稳定及其它中间物质,例如,如前述的处于激发态的ECL部分还本公开的范围内。另外,尽管发出可见光是本公开的某些实施例的有利特征,但发射其它类型的电磁辐射,例如红外或紫外光、X射线、微波等的组合物(下文中有时是“ECL组合物”)或系统也在本公开的范围内。结合本公开使用的术语“电化学发光(electrochemiluminescence/electrochemiluminescent)”、“发光(luminescence/luminescent/luminesce)”不需要发出的是光,但准许发出为此类其它形式的电磁辐射。

[0045] 本公开中的组合物可包括酸性或碱性组分,其可以质子化或去质子化形式存在,例如视水性组合物的pH而定。举例来说,对胺或其它碱(例如BDEA、DBAE或Tris)的参考可指代未质子化(胺)形式或质子化(铵)形式。类似地,对磷酸盐的参考可指代磷酸或磷酸盐的去质子化状态中的任一者。

[0046] 本公开涉及ECL读取缓冲液、分析组合物及含有其的试剂盒,以及使用其的方法。试剂盒是指一组组分,其经提供以共同地使用,例如以产生组合物、制造装置或实施方法。试剂盒可包括一或多种组分。试剂盒的组分可以一个封装或多个封装提供,其中的各者可含有组分中的一或多个者。

[0047] 在实施例中,本公开的组合物用于分析系统中以替换或合并或取代含有TPA的组合物。

[0048] 本公开的一个方面涉及包括ECL共反应物的经改进的ECL分析组合物,其中ECL共

反应物是BDEA或DBAE,优选是BDEA。这些ECL分析组合物提供合适的环境以诱导ECL标记发射ECL且通过测量ECL来敏感地测量ECL标记。本公开的ECL分析组合物可任选地包括额外组分,其包含pH缓冲液、清洁剂、防腐剂、表面活性剂、消泡剂、ECL活性物质、盐、螯合剂、酸、碱、金属离子和/或金属螯合剂和/或额外共反应物。

[0049] 本公开的ECL分析组合物还可包含生物分析的组分,在一些情况下可用ECL标记来标记所述组分,所述ECL标记包含抗体、抗体片段、蛋白质、酶、酶基质、酶抑制剂、辅因子、抗原、半抗原、脂蛋白、脂糖(liposaccharides)、细胞、亚细胞组分、细胞受体、膜片段、胞外体、细胞外囊泡、病毒、核酸、核酸类似物(包含具有非天然键联的类似物,例如蛋白质核酸或非天然核苷酸碱基)、抗原、脂质、糖蛋白、碳水化合物、肽、氨基酸、受体、激素、结合试剂、蛋白结合配位体、配位体、药理试剂、膜囊泡、脂质体、细胞器、细菌、真菌或其组合。这些生物分析组分可呈非固定形式或其可被固定于固相表面上,所述固相表面包含用于固相结合分析的固相表面,包含(但不限于)载玻片、芯片、孔、分析细胞、试管或其它容器、珠粒或微粒的表面。ECL分析组合物还可包含待在生物分析中测量的分析物和/或其中分析物待通过生物分析测量的样品或样品的组分。

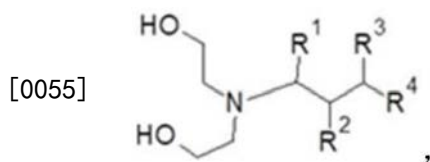
[0050] 本公开还涉及ECL读取缓冲液,其是包括ECL共反应物及任选地如本文中所描述的ECL分析组合物的一或多种额外组分的组合物,且其适用于测量样品中的分析物的分析中。接着单独或与其它分析组分组合使用ECL读取缓冲液以形成如本文中所描述的ECL分析组合物。在一个实施例中,ECL读取缓冲液包括:(i) ECL共反应物;(ii) pH缓冲组分,其将读取缓冲液的pH保持在限定范围内;(iii) 额外离子组分以及任选地(iv) 表面活性剂。

[0051] 本公开的ECL分析组合物和ECL读取缓冲液本质上可为水性的或大体上水性的(例如,>75重量%或优选地>85重量%的水),但可期望在一些应用中添加有机共溶剂,例如DMSO、DMF、甲酰胺、乙二醇、丙二醇、甲醇、乙醇、甘油或其它醇。在本公开的实施例中,ECL读取缓冲液(或其一种或多种组分)以干燥形式提供,且用户通过添加适当的溶剂或基质(优选地水或水性介质),且优选地通过添加限定体积的适当溶剂或基质将其转化为液体试剂,从而产生具有预定浓度的溶液组分的溶液。

[0052] 5.1 ECL共反应物

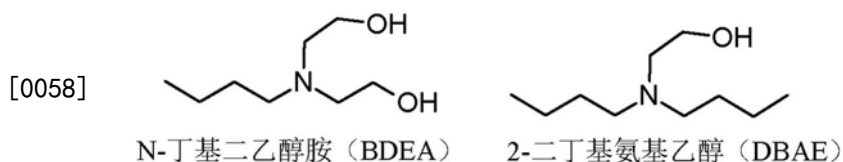
[0053] 申请人已发现包括非TPA共反应物的ECL读取缓冲液和ECL分析组合物在一些应用中提供与TPA相当或更好的性能。

[0054] 在实施例中,非TPA共反应物是下式 $(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}-\text{CHR}^1-\text{CHR}^2-\text{CHR}^3-\text{R}^4$ 的烷基二乙醇胺:



[0056] 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各自独立地是-H、- CH_3 、- CH_2CH_3 或- $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 。在实施例中, R^1 、 R^2 、 R^3 各自是-H且 R^4 是- CH_3 (BDEA)。在实施例中, R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各自是H。

[0057] 非TPA共反应物包含BDEA或DBAE(结构如下所展示)。优选地,非TPA共反应物是BDEA。



[0059] 相对于TPA, BDEA和DBAE具有低挥发性(在室温下, 蒸汽压小于2mm Hg)、高沸点(在大气压下, 沸点大于200℃)、良好水溶性、低气味及低可燃性。申请人已发现BDEA的出人意料地有利效应相对不受其作为ECL共反应物的浓度的影响。如下文所论述, 这一共反应物可与其它组分组合以形成组合物。此包含添加其它ECL共反应物, 例如TPA或N,N-二丁基乙醇胺或两者。

[0060] 本发明的ECL分析组合物和/或读取缓冲液中的BDEA或DBAE共反应物的浓度可在约10mM与约800mM之间、在约75mM与约400mM之间、在约75mM与约300mM之间、在约100mM与约300mM之间、在约100mM与约225mM之间、在约100mM与约150mM之间、在约100mM与约175mM之间、约150mM或约125mM。可选择浓度使得在采用组合物和/或读取缓冲液的ECL分析中, 特定ECL信号对共反应物浓度的小变化相对不敏感, 例如标称值的约0.5倍到约5倍、或约0.6倍到约2.5倍、或约0.7倍到约1.2倍、或约0.8倍到约1.5倍、或约0.8倍到约1.4倍、或约0.8倍到约1.2倍的浓度变化导致特定ECL信号变化小于或约5%、小于或约10%, 或小于或约20%。

[0061] 在一个实施例中, ECL分析组合物和/或读取缓冲液使得在采用其的ECL分析中的ECL产生步骤对温度变化相对不敏感, 例如对于在存在ECL分析组合物的情况下利用ECL标记产生ECL的步骤, 温度从18℃到30℃的变化导致特定ECL的变化小于10%、小于20%或小于30%, 或在这一范围内ECL随温度变化的斜率小于每℃2%或小于每℃10%。

[0062] 在本公开的组组合物的实施例中, ECL共反应物是BDEA。在实施例中, ECL共反应物是DBAE。在实施例中, 在存在组组合物的情况下由ECL标记产生的ECL在18℃到30℃的温度范围内平均每℃变化小于1%。在实施例中, ECL由邻近碳基电极的电化学发光钌有机金属复合物产生。

[0063] 在实施例中, 组合物中的ECL共反应物的浓度在约10mM与约800mM之间。在实施例中, ECL共反应物的浓度在约75mM与约300mM之间。在实施例中, ECL共反应物的浓度在约100mM与约150mM之间。在实施例中, ECL共反应物的浓度从标称值的0.8倍到1.2倍的变化提供了在存在组组合物的情况下由ECL标记产生的ECL变化小于10%。在实施例中, ECL由邻近碳基电极的电化学发光钌有机金属复合物产生。

[0064] 5.2pH缓冲液

[0065] 本发明的含有共反应物的ECL分析组合物和读取缓冲液优选地经设计以将pH保持在期望范围内。为达成对pH的控制, 这些组合物及缓冲液可包含pH缓冲组分。可充当pH缓冲组分以将溶液保持在特定pH范围内的物质在所属领域中众所周知。合适的pH缓冲组分的实例包含参(羟甲基)氨基甲烷(在本文中也称为“Tris”)、磷酸盐、HEPES、甘氨酸甘氨酸(也称为GlyGly)、硼酸盐、醋酸盐及柠檬酸盐。优选的pH缓冲组分是Tris和磷酸盐。Tris是尤其优选的, 这是因为Tris和BDEA(或DBAE)的混合物在存在ECL标记的情况下提供ECL的有效产生, 但在不存在ECL标记的情况下提供极低的ECL背景信号。在本发明的一个实施例中, 选择用于ECL分析组合物和/或读取缓冲液中的缓冲组分, 使得相对于其中缓冲组分经相同浓度

的磷酸盐替代的类似组合物,使用所述组合物的ECL分析中的特定信号大于磷酸盐组合物的信号、或至少约20%大于或至少约50%大于,且在不存在ECL标记的情况下的读取缓冲液背景信号小于磷酸盐组合物中的读取缓冲液背景、或至少约20%小于、或至少约50%小于或至少约80%小于。

[0066] 本发明的ECL分析组合物和/或读取缓冲液中的pH缓冲组分的浓度可在约10mM与约800mM之间、在约50mM与约400mM之间、在约100mM与约300mM之间、在约150mM与250mM之间或约200mM。

[0067] 可将ECL分析组合物或读取缓冲液设计或调整为具有限定范围内的pH。组合物可具有在约6到约10、约6到约9、约7到约8、约7.6到约7.9或约7.8的范围内的pH。在一个实施例中,选择ECL分析组合物和/或读取缓冲液的调配物及pH,使得在使用所述组合物的ECL分析中,ECL信号对pH的变化不敏感,例如特定ECL信号随pH增加或降低0.1的变化小于5%或小于10%,或ECL信号在此pH范围内的变化率小于每pH单位10%或小于每pH单位25%。

[0068] 在本公开的组合物的实施例中,pH缓冲组分是磷酸盐、HEPES、甘氨酸、甘氨酸、硼酸盐、醋酸盐或柠檬酸盐。

[0069] 在本公开的组合物的实施例中,pH缓冲组分是Tris。在实施例中,pH缓冲组分是Tris,且组合物包括表面活性剂。在实施例中,表面活性剂是非离子表面活性剂。在实施例中,表面活性剂是包括酚醚的非离子表面活性剂。在实施例中,表面活性剂是TRITON X-100。在实施例中,表面活性剂是不包括芳香族基的非离子表面活性剂。在实施例中,表面活性剂是不包括酚醚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物不破坏脂质双层膜。在实施例中,表面活性剂是非离子表面活性剂,例如KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG(n)十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,表面活性剂包括烷基醚-PEG。在实施例中,表面活性剂是直链烷基醚-PEG。在实施例中,表面活性剂是PEG(10)十三基醚、PEG(12)十三基醚或PEG(18)十三基醚。在实施例中,表面活性剂是TWEEN-20。在实施例中,表面活性剂是PEG(18)十三基醚。“PEG”是指清洁剂中的聚乙二醇部分且PEG(n)是指包括n个单体次单元的聚乙二醇部分。

[0070] 在本公开的组合物的实施例中,组合物的pH在约6与约9之间。在实施例中,pH在约7与约8之间。在实施例中,pH在约7.6与约7.9之间。在实施例中,pH约是7.8。在实施例中,对于在存在组合物的情况下由ECL标记产生的ECL,ECL随pH变化的斜率小于10%/pH单位。在实施例中,ECL由邻近碳基电极的电化学发光钌有机金属复合物产生。

[0071] 在组合物的实施例中,pH缓冲组分的浓度在约10mM与约800mM之间。在实施例中,pH缓冲组分的浓度在约100mM与约300mM之间。在实施例中,pH缓冲组分的浓度在约150mM与约250mM之间。

[0072] 在组合物的实施例中,pH缓冲组分不是磷酸盐,且与含有磷酸盐作为pH缓冲组分的相同组合物相比,组合物提供由ECL标记产生的ECL增加至少20%和/或在不存在ECL标记的情况下所产生的背景ECL减少至少20%。在实施例中,来自ECL标记的ECL由邻近碳基电极的电化学发光钌有机金属复合物产生和/或在不存在ECL标记的情况下在碳基电极处产生ECL。

[0073] 5.3 离子和盐

[0074] 本公开的组合物和/或读取缓冲液可包含不同浓度的一或多种离子或盐(包含如本文中所描述的pH缓冲组分或除如本文中所描述的pH缓冲组分以外)。在开发本发明的含有非TPA的组合物及读取缓冲液中的关键的出人意料的发现为相对于类似的含TPA组合物中通常使用的离子浓度,高离子浓度的有益效应,且尤其高离子浓度对降低经标记物质的非特异性结合的有益影响。可添加来增大离子浓度的盐是所属领域中众所周知的,且包含包括阳离子 Li^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Mg^{+2} 、 Ca^{+2} 、 NH_4^+ (优选地 Li^+ 、 Na^+ 及 K^+)的盐,和/或包括阴离子 F^- 、 Cl^- 、 Br^- 、 I^- 、磷酸根、硫酸根、硼酸根(优选地 Cl^-)的盐。可使用的盐包含氯化钾(KCl)、氯化钠(NaCl)、氯化锂(LiCl)及其组合。在本发明的一个实施例中,含非TPA的ECL分析组合物和/或读取缓冲液中的离子物质的一致性及其浓度经选择以使得,与其中非TPA共反应物经TPA替代的类似ECL分析组合物相比,ECL分析中的特定信号在具有TPA组合物的信号的约50%到约200%之间或在约75到约125%之间,且非特定背景信号在具有TPA组合物的非特定背景信号的约50%到约200%之间或在约75到约125%之间。

[0075] 本发明的含有共反应物的ECL分析组合物和/或读取缓冲液可包含盐,例如本文中所描述的那些盐,使得阴离子物质的总浓度是约或大于250mM、约或大于500mM、约或大于750mM、约或大于1000mM、约250mM到约1400mM、约500mM到约1200mM或约1050mM。此类组合物和/或读取缓冲液包含其中氯离子(Cl^-)的总浓度是约或大于250mM、约或大于500mM、约或大于750mM、约或大于1000mM、约250mM到约1400mM、约500mM到约1200mM或约1050mM的实施例。

[0076] 在包含 Cl^- 组分的实施例中,所公开的组合物可包含NaCl、KCl、LiCl或其混合物。在这一实施例中,NaCl的浓度可为约200mM到约1400mM、约600mM到约1200mM或约800mM;KCl的浓度可为约50mM、约200mM到约1400mM、约500mM、约600mM到约1200mM或约800mM;且LiCl的浓度可为约200mM到约1400mM、约600mM到约1200mM或约800mM。所公开的组合物可包含浓度为约800mM的NaCl,且KCl的浓度可为约50mM。所公开的组合物还可包含浓度为约800mM的LiCl,且KCl的浓度可为约50mM。

[0077] 在所公开的组合物的一个实施例中,组合物的离子强度可为约0.3M到约1.9M或约1.4M、约0.5M到约1.2M或约1.0M、约0.8M到约1.2M、约1.0M到1.2M或约1.1M。

[0078] 在本公开的组合物的实施例中,离子组分包括氯离子。在实施例中,离子组分包括NaCl、KCl、LiCl或所述盐中的任何两者或任何三者的组合。在实施例中,离子组分包括NaCl。在实施例中,离子组分包括KCl。

[0079] 在实施例中,组合物的离子强度大于约0.3M。在实施例中,组合物的离子强度大于约0.5M。在实施例中,组合物的离子强度大于约0.8M。在实施例中,组合物的离子强度大于约1.0M。

[0080] 在实施例中,组合物包括氯离子且氯离子的浓度大于约0.25M。在实施例中,组合物包括氯离子且氯离子的浓度大于约0.5M。在实施例中,组合物包括氯离子且氯离子的浓度大于约0.75M。在实施例中,组合物包括氯离子且氯离子的浓度大于约1.0M。

[0081] 在实施例中,与不含离子组分的相同组分相比,含有离子组分的组合物在免疫分析中的非特异性结合(NSB)较低。

[0082] 5.4表面活性剂

[0083] 基于BDEA和DBAE的ECL组合物和读取缓冲液的出人意料的方面是ECL产生对表面

活性剂的存在、浓度或结构的不敏感性。相比之下,基于TPA的组合物需要存在表面活性剂以用于最优选信号产生。来说具体来说,在存在包括芳香族部分(例如TRITON X-100中的酚醚部分)的表面活性剂的情况下,TPA提供最优选的ECL产生。

[0084] 因此,本发明的含有共反应物的ECL分析组合物和/或读取缓冲液包含以下组合物:(i) 不包含表面活性剂或(ii) 包含表面活性剂,但其浓度仅低于表面活性剂的临界微胞浓度(cmc)。临界微胞浓度(cmc)称为表面活性剂的浓度,高于所述浓度则形成微胞,且添加到组合物中的所有额外表面活性剂进入微胞。本发明的含共反应物的ECL分析组合物和/或读取缓冲液还包含组合物(i) 其不包含芳香族表面活性剂或更具体来说,含有酚醚部分的表面活性剂或更具体来说,TRITON X-100,或(ii) 其包含如(i) 中所描述的表面活性剂,但其浓度仅低于表面活性剂的临界微胞浓度(cmc)。

[0085] 可替代地,在一些应用中包含表面活性剂仍可为有利的,例如提供更低的表面张力或分解不合需要的分子聚集体。可存在的表面活性剂包含芳香族表面活性剂(例如TRITON X-100)和/或非芳香族表面活性剂。可存在的表面活性剂包含非离子表面活性剂和离子表面活性剂。可存在的非离子表面活性剂包含由NONIDET、BRIJ、TRITON、TWEEN、THESIT、LUBROL、GENAPOL、PLURONIC、TETRONIC、F108及SPAN的商标名已知的表面活性剂类别。优选地,包含一定浓度的表面活性剂,其为溶液提供小于或约50达因/厘米、小于或约40达因/厘米或小于或约35达因/厘米的空气液体表面张力。优选地,所包含的表面活性剂以约或高于其cmc、约或高于其cmc两倍,或约或高于其cmc五倍的浓度存在。在实施例中,本公开的组合物和/或读取缓冲液包含浓度为每体积组合物约0.1重量%、约0.2重量%、约0.3重量%、约0.4重量%、约0.5重量%、约0.6重量%、约0.7重量%、约0.8重量%、约0.9重量%、约1重量%、约2重量%、约3重量%、约4重量%、约5重量%、约6重量%、约7重量%、约8重量%、约9重量%或约10重量%的表面活性剂。在实施例中,本公开的组合物和/或读取缓冲液包含浓度为约0.1mM到约10mM、约0.2mM到约8mM、约0.3mM到约5mM、约0.4mM到约0.8mM、约0.5mM到约0.6mM、约1mM或约0.5mM的表面活性剂。在实施例中,包含浓度为约0.1mM、约0.2mM、约0.3mM、约0.4mM、约0.5mM、约0.6mM、约0.7mM、约0.8mM、约0.9mM、约1mM、约2mM、约3mM、约4mM、约5mM、约6mM、约7mM、约8mM、约9mM或约10mM的表面活性剂,所述表面活性剂包含于含ECL共反应物的组合物和/或读取缓冲液中。在实施例中,表面活性剂的浓度在约0.2mM与约10mM之间。在实施例中,表面活性剂的浓度在约0.5mM与约8mM之间。在实施例中,表面活性剂的浓度在约1.0mM与约5mM之间。在实施例中,表面活性剂的浓度约为0.5mM。在实施例中,表面活性剂的浓度约为1.0mM。在实施例中,表面活性剂的浓度为5.0mM。在实施例中,表面活性剂的浓度约为10mM。在实施例中,表面活性剂的浓度大于表面活性剂的临界微胞浓度(cmc)。

[0086] 有利地,可选择包含于组合物和/或读取缓冲液中的表面活性剂,其提供表面活性剂的一些期望属性,例如低表面张力(和较好控制的弯液面角),但相对于特定生物分析目标,比TRITON X-100变性较少。本发明包含其中包含不破坏包括脂质双层膜的分析物的温和表面活性剂的实施例。此类温和表面活性剂包含(但不限于)(i) 乙二醇和/或丙二醇的寡聚物或(ii) 通过醚基连接到乙二醇和/或丙二醇的寡聚物的烷基链。此类温和表面活性剂还可在由BRIJ、TWEEN、PLURONIC或KOLLIPHOR的商标名已知的表面活性剂类别中。此类温和表面活性剂还可为特定表面活性剂,例如KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-

121、PLURONIC 31R1、TETRONIC701、2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、HO(CH₂CH₂)₁₈C₁₃H₂₇ (还称为PEG (18) 十三基醚)、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。此类温和表面活性剂还可为特定表面活性剂,例如KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。优选地,表面活性剂不包含酯键。

[0087] 在实施例中,本公开的组合物包括非离子表面活性剂,所述非离子表面活性剂不包括酚醚。在实施例中,组合物不破坏脂质双层膜。在实施例中,表面活性剂是非离子表面活性剂,例如KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,表面活性剂是TWEEN 20。在实施例中,表面活性剂是PEG (18) 十三基醚。在实施例中,pH缓冲组分是磷酸盐、HEPES、甘氨酸甘氨酸、硼酸盐、醋酸盐或柠檬酸盐。

[0088] 5.5ECL标记和其它分析试剂

[0089] 本发明的组合物可包含适用于实施分析测量的各种分析试剂和/或组分,在一些情况下,所述试剂和/或组分可用ECL标记来标记,包含全细胞、细胞表面抗原、亚细胞粒子(例如,细胞器或膜片段)、胞外体、细胞外囊泡、脂质体、膜囊泡、病毒、朊病毒、尘螨或其片段、类病毒、抗体、抗原、半抗原、脂肪酸、核酸(和合成类似物)、蛋白质(和合成类似物)、脂蛋白、聚糖、抑制剂、辅因子、半抗原、细胞受体、受体配位体、脂聚糖、糖蛋白、肽、多肽、酶、酶基质、酶产物、第二信使、细胞代谢物、激素、药理试剂、合成有机分子、有机金属分子、镇静剂、巴比妥酸盐、生物碱、类固醇、维生素、氨基酸、糖、凝集素、重组或衍生蛋白质、生物素、抗生物素蛋白和/或抗生蛋白链菌素。分析试剂可用作例如结合分析或酶分析中的结合试剂或酶基质。

[0090] 本发明的组合物可包含ECL标记。有用的ECL标记包含在存在TPA作为共反应物的情况下产生ECL的标记。可使用的ECL标记的实例包含发光有机金属化合物,例如含有Ru、Os、Ir、Re或镧系金属的有机金属化合物(参见例如描述于美国专利第5,714,089号、第6,316,607号、第6,808,939号、第9,416,150号中的标记)。优选的ECL标记是含钌或铱的有机金属物质。这些含钌或铱的有机金属可包括与聚吡啶基配位体(最优选地,联吡啶、菲啉和/或其经取代衍生物)螯合的钌或铱。最优选地,ECL标记包括钌-参-联吡啶,联吡啶配位体任选地经例如用于将标记连接到分析试剂的连接基团和/或用于最小化非特异性结合的亲水性取代基取代。在一个实施例中,所使用的ECL标记是钌三联吡啶衍生物,其包含一或两个4,4'-双(磺基甲基)-联吡啶配位体(例如描述于美国专利第6,808,939号中的标记)。ECL标记可与如本文中所描述的分析试剂连接。

[0091] 在其中本发明的组合物用于分析物的结合分析中的特定实施例中,标记可连接到分析的结合组分,例如分析物或其类似物、分析物或其类似物的结合配偶体、此类前述结合配偶体的另一结合配偶体,或能够与如本文中所提及的分析物、其类似物或结合配偶体结合的反应性组分。本文中所描述的标记还可连接到一或多个结合配偶体和/或一或多种反应性组分的组合。反应性组分可用以间接地固定或标记另一分析组分。举例来说,在采用针对分析物的结合试剂的结合分析中,结合试剂可经直接固定或标记,或可替代地,可使用反应性组分间接地标记或固定所述结合试剂。此类方法是所属领域中众所周知的且包含(i)使用二级结合试剂(例如抗物种抗体)以标记或固定分析试剂(例如,抗分析物抗体)或(ii)

使用经标记或固定的抗生蛋白链菌素以标记或固定生物素-结合试剂共轭物。

[0092] 5.6其它组分

[0093] 本公开的ECL分析组合物和/或读取缓冲液可包含不同浓度的一或多种其它组分。在基本上由所述组分组成的组合物中,此类组合物含有所述组分及不会实质上影响组合物的基本和新颖特征的那些组分。不会实质上影响组合物的基本和新颖特征的组分是不会改变组合物的基本ECL特征(例如,ECL信号的产生)的那些组分。可包含于组合物中的组分的非限制性实例包含共溶剂(例如,例如本文中所描述的共溶剂)、防腐剂和/或杀生物剂(例如,迭氮化物、5-氯-2-甲基-4-异噻唑啉-3-酮和/或2-甲基-异噻唑啉-3-酮)、消泡剂(包含基于硅酮和/或非硅酮的试剂,例如消泡剂204、A、B、C、Y-30和/或来自Millipore Sigma的SE-15)、着色剂及化学示踪剂,其经添加以提供用于验证试剂的来源或真实性的化学指纹。在实施例中,包含过氯酸盐化合物。

[0094] 5.7浓缩和干燥形式

[0095] 本公开的另一实施例涉及经干燥或浓缩的试剂组合物,其可用稀释剂(例如,用水或水溶液)稀释以形成如上文所描述的ECL分析组合物和/或读取缓冲液。举例来说,此类浓缩的试剂组合物可具有呈干燥形式或呈液体形式的试剂组分,其浓度大于目标ECL分析组合物和/或读取缓冲液中的试剂浓度(例如,浓度可大于或等于 $2\times$ 、大于或等于 $4\times$ 或大于或等于 $10\times$ 目标浓度)。本发明还包含一种形成本发明的ECL分析组合物和/或读取缓冲液的方法,所述方法包括将干燥或浓缩的组合物与稀释剂(例如水溶液,且优选地水)混合。优选地,提供预定量的干燥或浓缩的组合物,且添加预定体积的稀释剂。在其中使用浓缩组合物的实施例中,稀释剂的体积与浓缩组合物的体积的比率可为约或大于1、约或大于2或约或大于3。

[0096] 可选择本公开的ECL分析组合物和/或读取缓冲液的调配物,使得其对成分的浓度或稀释相对不敏感,例如在用户不准确地测量用于再水合干燥试剂或稀释浓缩组合物的情况下。在一个实施例中,组合物和/或读取缓冲液经配置以使得在成分的标称浓度的0.8倍到1.2倍的浓度范围内,来自ECL分析的特定ECL信号相对不变、或变化小于10%、或变化小于20%或变化小于30%。

[0097] 在本公开的实施例中,组合物包括液体稀释剂。在实施例中,液体稀释剂是水且组合物大体上是水性的。

[0098] 在本公开的实施例中,组合物不包含液体稀释剂且以干燥形式提供组合物。

[0099] 5.8试剂盒

[0100] 本公开的一个方面涉及在一或多个容器中包括本公开的ECL分析组合物和/或读取缓冲液的一或多种组分的试剂盒。优选地,容器中的至少一者含有BDEA(或替代地,DBAE)。可使用的合适的容器包含(但不限于)玻璃和/或塑料容器以及塑料和/或箔袋。试剂盒封装或组分容器可标记有关于试剂盒或容器的内容物的信息或关于正确存储和/或在分析中使用的说明书。这些组分可任选地与额外试剂合并以形成本公开的ECL分析组合物和/或读取缓冲液。试剂盒还可包括与分析相关的额外组分,例如ECL标记、ECL标记的分析试剂、酶、结合试剂、电极、分析板等。试剂盒可包含呈液体或干燥状态的组分。

[0101] 本公开的另一方面涉及包括两种或更多种组分的试剂盒,当混合时,所述组分形成如本文中所描述的ECL分析组合物或读取缓冲液。组分可为固体和/或液体,优选地至少

一种组分是液体。本发明还包含一种形成ECL分析组合物和/或读取缓冲液的方法,所述方法包括将所述组分混合于此试剂盒中。在一个实施例中,将预定量的各组分混合。可以预测量的方式将此类预定量的组分提供于单独容器中。在一个实施例中,方法还包括提供一或多种并非试剂盒的部分的额外组分且使其与试剂盒的组分合并。在一个实例中,额外组分是液体稀释剂(例如,水)。

[0102] 本公开的另一方面涉及用于实施分析的试剂盒,其在一或多个容器中包括ECL读取缓冲液和一或多种额外分析组分。在此试剂盒内,ECL读取缓冲液可作为单一组分提供,或如上文所描述作为两种或更多种组分提供。用于实施分析的可为试剂盒的部分的额外分析组分包含(但不限于)(i)分析仪器;(ii)分析消耗品;(iii)额外分析试剂;以及(iv)例如用作校准标准或分析对照的分析样品。

[0103] 可包含于试剂盒中的分析消耗品的实例是分析模块,其经设计以在分析的一或多个步骤期间含有样品和/或试剂;移液管尖端及其它消耗品,其用于转移液体样品及试剂;封盖及密封件,其用于分析中所使用的分析模块和其它消耗品;托架,其用于固持其它分析消耗品;标记(包含人类可读或机器可读格式,例如条码、RFID等),其用于识别样品或其它分析消耗品;以及媒体(包含纸质及电子媒体),其用于提供关于分析的信息和/或实施分析的说明书。

[0104] 分析模块可包含试管、比色管、孔、多孔板、滤筒、侧流装置、流通槽及其类似物。试剂盒可包括具有一或多个分析电极的分析模块,例如根据标题是“用于发光测试测量的分析板、读取器系统及方法(Assay Plates, Reader Systems and Methods for Luminescence Test Measurements)”的美国专利第7,842,246号及第6,977,722号的分析板或多孔分析板,或根据标题是“分析料筒及使用其的方法(Assay Cartridges and Methods of Using the Same)”的美国专利第9,731,297号的分析料筒,各者以引用的方式并入本文中。优选地,分析电极包含可为碳墨电极的碳电极。根据一个实施例,试剂盒包括分析模块,且分析模块用作试剂盒中所提供的一或多种其它分析组分的容器。在此类实施例中,一或多种其它分析组分可包含ECL读取缓冲液或ECL读取缓冲液的一或多种组分,例如读取缓冲液或其组分可任选地以干燥形式提供于多孔板孔的一或多个孔中。

[0105] 根据另一实施例,试剂盒包括分析模块且分析模块用作至少一种结合试剂的容器。任选地,结合试剂经固定于分析模块中。任选地,多种结合试剂以结合试剂的阵列形式固定于分析模块中。固定化结合试剂和/或固定化结合试剂的阵列可经固定于分析模块内的电极(其可为碳电极或碳墨电极)上。

[0106] 根据另一实施例,试剂盒包括具有多个孔的多孔分析板,且分析板用作至少一种结合试剂的容器。任选地,结合试剂经固定于培养板中。培养板内的多个孔可具有固定于其内的结合试剂。这些孔中的各者中的结合试剂可对于这些孔中的所有者、这些孔中的一些或这些孔中无一者来说是相同的。任选地,多种结合试剂以结合试剂的阵列形式固定于这些孔中的各者中。固定化结合试剂和/或固定化结合试剂的阵列可经固定于孔内的电极(其可为碳基电极或更具体来说,碳墨电极)上。

[0107] 可包含于试剂盒中(和/或于分析模块内,固定或非固定)的结合试剂包含(但不限于)全细胞、细胞表面抗原、亚细胞粒子(例如,细胞器或膜片段)、胞外体、细胞外囊泡、膜囊泡、脂质体、病毒、朊病毒、尘螨或其片段、类病毒、抗体、抗原、半抗原、脂肪酸、核酸(和合成

类似物)、蛋白质(和合成类似物)、脂蛋白、聚糖、抑制剂、辅因子、半抗原、细胞受体、受体配位体、脂聚糖、糖蛋白、肽、多肽、酶、酶基质、酶产物、第二信使、细胞代谢物、激素、药理试剂、合成有机分子、有机金属分子、镇静剂、巴比妥酸盐、生物碱、类固醇、维生素、氨基酸、糖、凝集素、重组或衍生蛋白质、生物素、抗生物素蛋白和/或抗生蛋白链菌素。

[0108] 在一个实施例中,试剂盒包括包含脂质双层膜的结合试剂(其可提供于分析模块中且任选地固定于分析模块中)及不破坏这一试剂中的脂质双层的ECL读取缓冲液(提供于一或多个部分中)。读取缓冲液可不含表面活性剂。可替代地,读取缓冲液可含有表面活性剂,但其浓度低于表面活性剂的cmc。可替代地,读取缓冲液可含有不破坏脂质双层膜的温和表面活性剂(其可以高于cmc的浓度存在)。在实施例中,脂质双层膜衍生自以下中的至少一者:完整细胞、细胞裂解物、细胞片段、细胞膜、膜重影、细胞器、细胞器片段、细胞器膜、病毒粒子、病毒粒子片段、病毒粒子膜、脂质体、质膜片段、核内体、格形蛋白涂布的囊泡、内质网片段、突触囊泡、高基氏片段(Golgi fragment)、膜亚域(membrane subdomain)、粒线体、过氧化体、溶酶体、脂质体、胞外体、细胞外囊泡、病毒粒子、从细胞脱落的病毒诱导膜封闭粒子或完整的生物衍生的脂膜体。

[0109] 根据另一实施例,试剂盒包括两个或更多个、四个或更多个、八个或更多个、15个或更多个或25个或更多个分析模块或培养板。根据一个实施例,试剂盒包含于可重复密封的袋或容器(例如,具有拉链锁开口的容器)中。

[0110] 在实施例中,本公开提供一种试剂盒,其在一或多个容器中包括以下物质:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分以及离子组分。

[0111] 在实施例中,材料中的一或多者以干燥形式提供。在实施例中,试剂盒进一步包括液体稀释剂。在实施例中,试剂盒进一步包括表面活性剂。在实施例中,试剂盒不包括表面活性剂或液体稀释剂。

[0112] 在实施例中,本公开提供一种试剂盒,其包括本文中所描述的组合物及:分析仪器;分析消耗品;额外分析试剂;分析样品;或其组合。在实施例中,试剂盒包括分析仪器,其中分析仪器经配置以进行ECL分析。在实施例中,试剂盒包括分析消耗品且进一步包括经配置用于ECL分析中的电极。在实施例中,电极是碳基电极。在实施例中,电极是网版印刷的碳墨电极。

[0113] 在实施例中,试剂盒包括额外分析试剂,其中额外分析试剂是结合试剂。在实施例中,用ECL标记来标记结合试剂。在实施例中,标记是有机金属钌复合物。在实施例中,试剂盒包括额外分析试剂,其中额外分析试剂是结合试剂且额外分析试剂经固定于电极上。在实施例中,试剂盒包括额外分析试剂,其中额外分析试剂是结合试剂且额外分析试剂以阵列形式固定于电极上。在实施例中,试剂盒包括额外分析试剂,其中额外分析试剂是结合试剂且额外分析试剂经固定于粒子上。在实施例中,粒子是可磁性收集的。

[0114] 在实施例中,试剂盒包括至少一种分析样品,其中至少一种分析样品包含分析校准样品和/或分析对照样品。

[0115] 5.9方法

[0116] 本公开的另一方面涉及使用本公开的缓冲液、试剂和/或组合物的方法。

[0117] 本公开的一个实施例涉及一种用于进行电化学发光分析的方法,其中存在本公开的ECL分析组合物和/或读取缓冲液的情况下诱导电化学发光。可使用碳基电极来诱导电

化学发光。根据这一实施例的方法包含使电极与ECL分析组合物和/或读取缓冲液接触,将电压施加到电极以及测量所得电化学发光。

[0118] 本公开的另一实施例涉及一种用于测量ECL标记的量的方法,其中在存在本公开的ECL分析组合物和/或读取缓冲液的情况下诱导标记发射电化学发光,且测量电化学发光以便测量ECL标记的量。可使用碳基电极来诱导电化学发光。根据这一实施例的方法包含使电极与ECL分析组合物和/或读取缓冲液接触,将电压施加到电极以及测量所得电化学发光,其中将一定量的ECL标记固定或以其它方式固持于所述电极附近。可替代地,一定量的ECL标记可为ECL分析组合物和/或读取缓冲液的组分。

[0119] 本公开的另一实施例涉及一种用于测量结合复合物的量的方法,所述结合复合物包括用ECL标记来标记的结合分析试剂,其中在存在本公开的ECL分析组合物和/或读取缓冲液的情况下诱导标记发射电化学发光,且测量电化学发光以便测量结合复合物的量。可使用碳基电极来诱导电化学发光。根据这一实施例的方法包含:(i)使电极与结合反应溶液接触,其中电极具有固定于其上的固定化结合试剂且结合反应溶液包括用ECL标记来标记的标记结合试剂;(ii)在电极上形成包括固定化结合试剂和标记结合试剂的结合复合物;(iii)使电极上的结合复合物与含有共反应物的ECL分析组合物接触;(iv)在存在ECL分析组合物的情况下将电压施加到电极;以及(v)测量所得ECL以测量结合复合物的量。根据这一实施例的另一方法包含:(i)使粒子(或另一固相结合反应载体)与结合反应溶液接触,其中粒子具有固定于其上的固定化结合试剂且结合反应溶液包括用ECL标记来标记的标记结合试剂;(ii)在粒子上形成包括固定化结合试剂和标记结合试剂的结合复合物;(iii)使粒子上的结合复合物与含有共反应物的ECL分析组合物接触;(iv)将粒子收集于电极上(例如,通过重力、离心、过滤或在磁性粒子的情况下,通过使用磁体);(v)在存在ECL分析组合物的情况下将电压施加到电极;以及(vi)测量所得ECL以测量结合复合物的量。在其它实施例中,电极包括铂或基本上由铂组成。

[0120] 方法可使用“洗涤”分析形式,其中本文中所描述的方法的步骤(iii)进一步包括洗涤电极(或粒子)以去除未结合的标记结合试剂且使电极(或粒子)与含ECL共反应物的ECL读取缓冲液接触以提供ECL分析组合物。可替代地,可使用“非洗涤”形式,其中步骤(iii)不包含洗涤步骤且包括使结合反应溶液与含ECL共反应物的ECL读取缓冲液合并以形成ECL分析组合物。在替代性“非洗涤”形式中,结合反应溶液是含共反应物的ECL分析组合物。

[0121] 本公开的另一实施例涉及用于实施分析物的分析的方法,所述方法采用如本文中所描述的用于测量结合复合物的方法。在这一实施例中,方法的步骤(i)可进一步包括(a)使电极(或粒子)与含有一定量的分析物的样品接触和/或(b)通过使标记结合试剂与含有一定量的分析物的样品合并来形成结合反应溶液。此外,步骤(v)可包括根据结合复合物的量来确定分析物的量。可实施的结合分析形式包含(但不限于)(i)直接结合分析,其中标记结合试剂是所关注的分析物且固定化结合试剂是分析物的结合配偶体,且复合物是通过两种试剂的直接结合而形成;(ii)夹心结合分析,其中固定化及标记结合试剂均是所关注的分析物的结合配偶体且分析物结合两种结合配偶体以形成复合物;(iii)竞争性结合分析,其中固定化结合试剂是分析物的结合配偶体且标记结合试剂是竞争者(例如,分析物或分析物的类似物),所述竞争者与固定化结合试剂竞争以与分析物结合,或替代地,标记结合

试剂是分析物的结合配偶体且固定化结合试剂为竞争者,所述竞争者与固定化结合试剂竞争以与分析物结合(在竞争性形式中,标记结合复合物-通过固定化和标记结合试剂的直接结合而形成-所的量随着分析物量的增加而减少)。当固定化和/或标记结合试剂在本文中描述为分析物的结合配偶体或竞争者时,在所属领域中应充分理解,其可经反应性组分替代,所述反应性组分又直接地或通过额外反应性组分与分析物的结合配偶体或竞争者结合。

[0122] 本公开的另一实施例涉及一种用于测量分析物的量或活性的方法,其中分析物与包括ECL标记的标记物质反应、与其形成复合物或与其竞争特异性结合交互作用,其中存在本公开的含ECL共反应物的ECL分析组合物和/或读取缓冲液的情况下诱导标记发射电化学发光且测量电化学发光以便测量分析物的量或活性。可使用碳基电极来诱导电化学发光。分析物的存在或活性导致标记与电极结合或从电极释放(例如,通过形成特异性结合复合物或通过裂解或形成化学键)。根据这一实施例的方法可包含使电极与ECL分析组合物和/或读取缓冲液接触,将电压施加到电极以及测量所得电化学发光,其中将一定量的ECL标记固定或以其它方式固持在电极附近。有利地,在存在本公开的ECL分析组合物和/或读取缓冲液的情况下,用于诱导ECL的波形的持续时间可较短,例如波形的持续时间可少于12秒、少于6秒、少于3秒、少于2秒或少于1秒。

[0123] 在所属领域中建立了在ECL分析中使用经测量量的ECL以确定ECL标记或分析物的量和/或浓度的方法,且可包含例如使用校准标准和/或校准曲线来建立ECL信号与标记和/或分析物的量和/或浓度之间的关系。可在不同时间实施校准,例如在方法开发期间、在特定批次的分析物质检核期间或在分析测量时。还可使用基于分析组分和仪器的已知物理和化学行为的计算来实施校准。

[0124] 本公开的实施例可用于测试可含有所关注的分析物或活性的各种样品。此类样品可呈固体、乳液、悬浮液、液体或气体形式。所述样品可为(但不限于)含有或衍生自以下的样品:例如细胞(活的或死亡)和细胞衍生产物、永生化细胞、细胞片段、细胞馏分、细胞溶解物、细胞器、细胞膜、融合瘤、细胞培养物上清液(包含来自生产例如融合瘤的生物体的抗体的上清液)、废水或饮用水、食物、饮料、药物组合物、血液、血清、血浆、毛发、汗液、尿液、粪便、组织、活检体、流出物、分离和/或分级样品、分离和/或分级液体、器官、唾液、动物部分、动物副产物、植物、植物部分、植物副产物、土壤、矿物质、矿床、水、供水、水源、来自流体(气体和液体)的过滤残余物、推移物(swipes)、吸收物质、凝胶、细胞骨架、蛋白质复合物、未经分级的样品、未经分级的细胞溶解物、内分泌因子、旁分泌因子、分泌因子、细胞因子、激素、细胞信号传导因子和或组分、第二信使信号传导因子和/或组分、细胞核(cell nucleus/nuclei)、核馏分、化学物质、化学组合物、结构性生物组分、骨架(韧带、肌腱)组分、分离和/或分级分离的骨架组分、毛发、毛皮、羽毛、毛发级分和/或分离物、皮肤、皮肤样品、皮肤级分、真皮、内皮层(endodermis)、真核细胞、原核细胞、真菌、酵母、抗体、抗体片段、免疫因子、免疫细胞、药物、治疗药物、油状物、萃取物、粘液、毛皮、油状物、生活污水、环境样品、有机溶剂或空气。样品可进一步包括例如水、有机溶剂(例如,乙腈、二甲亚砜、二甲基甲酰胺、正甲基-吡咯烷酮或醇)或其混合物。

[0125] 可测量的分析物包含(但不限于)全细胞、细胞表面抗原、亚细胞粒子(例如,细胞器或膜片段)、胞外体、细胞外囊泡、脂质体、膜囊泡、病毒、朊病毒、尘螨或其片段、类病毒、

抗体、抗原、半抗原、脂肪酸、核酸(和合成类似物)、蛋白质(和合成类似物)、脂蛋白、聚糖、抑制剂、辅因子、半抗原、细胞受体、受体配位体、脂聚糖、糖蛋白、肽、多肽、酶、酶基质、酶产物、第二信使、细胞代谢物、激素、药理试剂、合成有机分子、有机金属分子、镇静剂、巴比妥酸盐、生物碱、类固醇、维生素、氨基酸、糖、凝集素、重组或衍生蛋白质、生物素、抗生物素蛋白、抗生蛋白链菌素或存在于样品中的无机分子。可测量的活性包含(但不限于)以下各者的活性:磷酸化酶、磷酸酶、酯酶、反-谷酰胺酸酶、损坏活性的核酸、转移酶、氧化酶、还原酶、去氢酶、糖苷酶、核糖体、蛋白质处理酶(例如,蛋白酶、激酶、蛋白质磷酸酶、泛素蛋白连接酶等)、核酸处理酶(例如,聚合酶、核酸酶、集成酶、连接酶、解螺旋酶、端粒酶等)、细胞受体活化、第二信使系统活化等。

[0126] 全细胞可为动物、植物或细菌,且可为有活性的或死亡的。实例包含植物病原体,例如真菌及线虫。术语“亚细胞粒子”意味涵盖例如亚细胞细胞器、如来自破裂细胞的膜粒子、细胞壁片段、核糖体、多酶复合物及可衍生自活生物体的其它粒子。核酸包含例如染色体DNA、质体DNA、病毒DNA及衍生自多种来源的重组DNA。核酸还包含RNA,例如信使RNA、核糖体RNA及转移RNA。多肽包含例如酶、转运蛋白、受体蛋白及结构蛋白,例如病毒外壳蛋白。优选的多肽是酶和抗体。尤其优选的多肽是单克隆抗体。激素包含例如胰岛素和T4甲状腺激素。药理试剂包含例如强心苷。当然,包含化学上类似的生物材料的合成物质(例如合成多肽、合成核酸以及合成膜、囊泡及脂质体)也在本公开的范围。前述不打算为适合用于本公开的生物物质的综合列表,但仅意味说明本公开的广泛范围。

[0127] 在实施例中,本公开提供一种用于生产组合物的方法,所述方法包括合并以下各者:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分以及离子组分。在方法的实施例中,材料中的一或多者以干燥形式提供。

[0128] 在实施例中,本公开提供一种用于产生ECL的方法,所述方法包括:使电极与本文中所描述的组合物和ECL标记接触;将电压施加到电极;以及产生ECL。

[0129] 在实施例中,本公开提供一种用于测量ECL标记的量的方法,所述方法包括使电极与本文中所描述的组合物和ECL标记接触;将电压施加到电极;产生ECL;测量ECL;以及根据所测量的ECL确定标记的量。

[0130] 在实施例中,本公开提供一种用于测量结合复合物的量的方法,所述结合复合物包括连接到ECL标记的结合试剂,所述方法包括使电极上的固定化结合试剂与包括ECL标记的标记结合试剂接触;在电极上形成包括固定化结合试剂和标记结合试剂的结合复合物;使电极上的结合复合物与如本文中所描述的组合物接触;在存在组合物的情况下将电压施加到电极;产生ECL;以及测量ECL以确定电极上的结合复合物的量。

[0131] 在实施例中,本公开提供一种用于测量结合复合物的量的方法,所述结合复合物包括连接到ECL标记的结合试剂,所述方法包括使粒子上的固定化结合试剂与包括ECL标记的标记结合试剂接触;在粒子上形成包括固定化结合试剂和标记结合试剂的结合复合物;使粒子上的结合复合物与如本文中所描述的组合物接触;将粒子收集于电极上;在存在组合物的情况下将电压施加到电极;产生ECL;以及测量ECL以确定电极上的结合复合物的量。在实施例中,所述方法进一步包括在形成结合复合物之后且在使电极与组合物接触之前和/或期间洗涤电极。

[0132] 在实施例中,本公开提供一种用于测量结合复合物的量的方法,所述结合复合物

包括连接到ECL标记的结合试剂,所述方法包括使粒子上的固定化结合试剂与包括ECL标记的标记结合试剂接触;在粒子上形成包括固定化结合试剂和标记结合试剂的结合复合物;使粒子上的结合复合物与如本文中所描述的组合物接触;将粒子收集于电极上;在存在组合物的情况下将电压施加到电极;产生ECL;以及测量ECL以确定电极上的结合复合物的量。在实施例中,粒子为可磁性收集的且使用磁场将粒子收集于电极上。在实施例中,所述方法进一步包括在形成结合复合物之后且在使粒子与组合物接触之前和/或期间洗涤粒子。

[0133] 在方法的实施例中,固定化结合试剂与标记结合试剂彼此直接结合。在方法的实施例中,固定化结合试剂与标记结合试剂通过其它结合物质彼此间接地结合。在实施例中,固定化结合试剂和标记结合试剂包括:(i)所关注的分析物的结合配偶体,(ii)所关注的分析物或其类似物和/或竞争者,或(iii)能够与物质(i)或(ii)结合的反应性组分。

[0134] 在实施例中,本公开提供一种用于测量分析物的量的方法,所述方法包括:使电极上的固定化结合试剂与包括ECL标记和分析物(或包括分析物的样品)的标记结合试剂接触;在电极上形成包括固定化结合试剂和标记结合试剂的结合复合物;使电极上的结合复合物与如本文中所描述的组合物接触;在存在组合物的情况下将电压施加到电极;产生ECL;以及测量ECL以确定分析物的量。在实施例中,方法进一步包括在形成结合复合物之后且在使电极与组合物接触之前和/或期间洗涤电极。在实施例中,方法经配置以实施多种分析物的多重测量,且在电极上已固定有用于多种分析物的固定化结合试剂阵列。

[0135] 在实施例中,本公开提供一种用于测量分析物的量的方法,所述方法包括:使粒子上的固定化结合试剂与包括ECL标记和分析物(或包括分析物的样品)的标记结合试剂接触;在粒子上形成包括固定化结合试剂和标记结合试剂的结合复合物;使粒子上的结合复合物与如本文中所描述的组合物接触;将粒子收集于电极上;在存在组合物的情况下将电压施加到电极;产生ECL;以及测量ECL以确定分析物的量。在实施例中,粒子为可磁性收集的粒子且使用磁场将粒子收集于电极上。在实施例中,方法进一步包括在形成结合复合物之后且在使粒子与组合物接触之前和/或期间洗涤粒子。在实施例中,固定化结合试剂和标记结合试剂包括:(i)分析物的结合配偶体,(ii)分析物或其类似物和/或竞争者,或(iii)能够与物质(i)或(ii)结合的反应性组分。

[0136] 在方法的实施例中,电极是碳基电极。在实施例中,电极是网版印刷的碳墨电极。在实施例中,ECL使用摄影机来成像。在实施例中,ECL使用光电二极管来测量。在实施例中,电极处于多孔板分析消耗品中。在实施例中,电极处于流通槽中。在实施例中,电极是铂。

[0137] 5.10组合物

[0138] 以下为所公开的ECL分析组合物和/或读取缓冲液的实施例的一些非限制性实例。

[0139] 在所公开的组合物的一个实施例中,可包含以下组分:BDEA,浓度为约75mM到约300mM;参(羟甲基)氨基甲烷(TRIS)缓冲液,浓度为零或约100mM到约300mM;TRITON X-100 ($C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n$) 表面活性剂,浓度为零或约0.2mM到约10mM;氯离子,浓度为零或约200mM到约1,000mM;不含酚的非离子表面活性剂,浓度为零或约0.2mM到约10mM;甘油,浓度为零或约200mM到约800mM以及 Na_2SO_4 ,浓度为零或约200mM到约800mM。

[0140] 在所公开的组合物的另一实施例中,可包含以下组分:BDEA,浓度为约75mM到约300mM;TRIS,浓度为约100mM到约300mM;氯离子,浓度为约200mM到1,000mM;TRITON X-100,浓度为约0.2到约10mM。

[0141] 在所公开的组物的另一实施例中,可包含以下组分:BDEA,浓度为约150mM;TRIS,浓度为约200mM;KCl,浓度为约50mM;TRITON X-100,浓度为约1mM;以及NaCl,浓度为约800mM。

[0142] 在所公开的组物的另一实施例中,可包含以下组分:BDEA,浓度为约75mM到约300mM;TRIS,浓度为约100mM到约300mM;氯离子,浓度为约200mM到1,000mM;不含酚的非离子表面活性剂,浓度为约0.2到约5mM,其中表面活性剂是KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。

[0143] 在所公开的组物的另一实施例中,可包含以下组分:BDEA,浓度为约150mM;TRIS,浓度为约200mM;KCl,浓度为约50mM;不含酚的非离子表面活性剂,浓度为约1mM;以及NaCl,浓度为约800mM,其中表面活性剂是KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。

[0144] 在实施例中,本公开提供一种组物,其包括:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分以及离子组分。在实施例中,本公开提供一种组物,其基本上由以下组成:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分以及离子组分。

[0145] 在实施例中,本发明提供一种组物,其包括下式的烷基二乙醇胺: $(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}-\text{CHR}^1-\text{CHR}^2-\text{CHR}^3-\text{R}^4$,其中 R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各自独立地是-H、- CH_3 、- CH_2CH_3 或- $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$,例如 R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各自是H,浓度为约75mM到约300mM;参(羟甲基)氨基甲烷(TRIS)缓冲液,浓度为零或约100mM到约300mM;TRITON X-100 ($\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$) 表面活性剂,浓度为零或约0.2mM到约10mM;氯离子,浓度为零或约200mM到约1,000mM;不含酚的非离子表面活性剂,浓度为零或约0.2mM到约10mM;甘油,浓度为零或约200mM到约800mM以及 Na_2SO_4 ,浓度为零或约200mM到约800mM。

[0146] 在所公开的组物的另一实施例中,可包含以下组分:下式的烷基二乙醇胺: $(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}-\text{CHR}^1-\text{CHR}^2-\text{CHR}^3-\text{R}^4$,其中 R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各自独立地是-H、- CH_3 、- CH_2CH_3 或- $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$,例如 R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各自是H,浓度为约75mM到约300mM;TRIS,浓度为约100mM到约300mM;氯离子,浓度为约200mM到1,000mM;TRITON X-100,浓度为约0.2到约10mM。

[0147] 在所公开的组物的另一实施例中,可包含以下组分:下式的烷基二乙醇胺: $(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}-\text{CHR}^1-\text{CHR}^2-\text{CHR}^3-\text{R}^4$,其中 R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各自独立地是-H、- CH_3 、- CH_2CH_3 或- $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$,例如 R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各自是H,浓度为约150mM;TRIS,浓度为约200mM;KCl,浓度为约50mM;TRITON X-100,浓度为约1mM以及NaCl,浓度为约800mM。

[0148] 在所公开的组物的另一实施例中,可包含以下组分:下式的烷基二乙醇胺: $(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}-\text{CHR}^1-\text{CHR}^2-\text{CHR}^3-\text{R}^4$,其中 R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各自独立地是-H、- CH_3 、- CH_2CH_3 或- $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$,例如 R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各自是H,浓度为约75mM到约300mM;TRIS,浓度为约100mM到约300mM;氯离子,浓度为约200mM到1,000mM;不含酚的非离子表面活性剂,浓度为约0.2到约5mM,其中表面活性剂是KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。

[0149] 在所公开的组合物的另一实施例中,可包含以下组分:下式的烷基二乙醇胺: $(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}-\text{CHR}^1-\text{CHR}^2-\text{CHR}^3-\text{R}^4$),其中 R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各自独立地是 $-\text{H}$ 、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 或 $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$,例如 R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各自是 H ,浓度为约150mM;TRIS,浓度为约200mM;KCl,浓度为约50mM;不含酚的非离子表面活性剂,浓度为约1mM以及NaCl,浓度为约800mM,其中表面活性剂是KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。

[0150] 在实施例中,本公开的组合物进一步包括以下中的至少一者:表面活性剂;液体稀释剂;ECL标记;用于结合分析的结合试剂;防腐剂;杀生物剂;消泡剂;过氯酸盐化合物;着色剂;或化学示踪剂。

[0151] 在实施例中,本公开提供一种组合物,其由以下组成:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分以及离子组分。

[0152] 在实施例中,pH缓冲组分是参(羟甲基)-氨基甲烷(Tris)。

[0153] 在实施例中,pH缓冲组分是参(羟甲基)-氨基甲烷(Tris),且组合物包括表面活性剂。在实施例中,表面活性剂包括酚醚。在实施例中,表面活性剂为TRITON X-100。在实施例中,表面活性剂不包括酚醚。在实施例中,组合物不破坏脂质双层膜。在实施例中,表面活性剂是KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,表面活性剂是TWEEN-20。在实施例中,表面活性剂是PEG (18) 十三基醚。

[0154] 在实施例中,本公开的组合物包括表面活性剂,所述表面活性剂不包括酚醚。在实施例中,组合物不破坏脂质双层膜。在实施例中,表面活性剂是KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,表面活性剂是TWEEN-20。在实施例中,表面活性剂是PEG (18) 十三基醚。在实施例中,pH缓冲组分是磷酸盐、HEPES、甘氨酸、甘氨酸、硼酸盐、醋酸盐或柠檬酸盐。

[0155] 在实施例中,ECL共反应物是BDEA。在实施例中,ECL共反应物是DBAE。在实施例中,在存在组合物的情况下由ECL标记产生的ECL在18℃到30℃的温度范围内平均每℃变化小于1%。在实施例中,ECL由邻近碳基电极的电化学发光钌有机金属复合物产生。

[0156] 在本文中所描述的组合物实施例中,pH在6与9之间。在实施例中,pH在7与8之间。在实施例中,pH在7.6与7.9之间。在实施例中,pH是约7.8。在本文中所描述的组合物实施例中,对于在存在组合物的情况下由ECL标记产生的ECL,ECL随pH变化的斜率小于每pH单位10%。在实施例中,ECL由邻近碳基电极的电化学发光钌有机金属复合物产生。

[0157] 在本文中所描述的组合物实施例中,离子组分包括NaCl。在实施例中,离子组分包括KCl。在实施例中,离子组分包括LiCl。在实施例中,离子组分包括氯离子。

[0158] 在实施例中,本文中所描述的组合物包括液体稀释剂。在实施例中,液体稀释剂是水且组合物大体上是水性的。

[0159] 在本文中所描述的组合物实施例中,ECL共反应物的浓度在约10mM与约800mM之间。在实施例中,ECL共反应物的浓度在约75mM与约300mM之间。在实施例中,ECL共反应物的

浓度在约100mM与约150mM之间。在本文中所描述的组合物实施例中,ECL共反应物的浓度从标称值的0.8倍到1.2倍的变化提供了在存在组合物存在的情况下由ECL标记产生的ECL变化小于10%。在实施例中,ECL由邻近碳基电极的电化学发光钌有机金属复合物产生。在实施例中,来自ECL标记的ECL由邻近碳基电极的电化学发光钌有机金属复合物产生和/或在不存在ECL标记的情况下在碳基电极处产生ECL。

[0160] 在实施例中,pH缓冲组分的浓度在约10mM与约800mM之间。在实施例中,pH缓冲组分的浓度在约100mM与约300mM之间。在实施例中,pH缓冲组分的浓度在约150mM与约250mM之间。

[0161] 在实施例中,本文中所描述的组合物离子强度大于0.3M。在实施例中,本文中所描述的组合物离子强度大于0.5M。在实施例中,本文中所描述的组合物离子强度大于0.8M。在实施例中,本文中所描述的组合物离子强度大于1.0M。在实施例中,组合物包括氯离子且氯离子的浓度大于约0.25M。在实施例中,组合物包括氯离子且氯离子的浓度大于约0.5M。在实施例中,组合物包括氯离子且氯离子的浓度大于约0.75M。在实施例中,组合物包括氯离子且氯离子的浓度大于约1.0M。

[0162] 在本文中所描述的组合物实施例中,选择pH缓冲组分,使得与含有磷酸盐作为pH缓冲组分的相同组合物相比,组合物提供由ECL标记产生的ECL减少至少20%和/或在不存在ECL标记的情况下产生的背景ECL减少至少20%。

[0163] 在实施例中,与不含离子组分的相同组合物相比,含有离子组分的组合物在免疫分析中的非特异性结合(NSB)较低。

[0164] 在实施例中,本文中所描述的组合物不包含液体稀释剂,且组合物以干燥形式提供。

[0165] 在实施例中,本公开提供一种组合物,其包括:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分以及离子组分。在实施例中,本公开提供一种组合物,其包括:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分;离子组分以及表面活性剂。在实施例中,本公开提供一种组合物,其包括:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分;离子组分以及液体稀释剂。在实施例中,本公开提供一种组合物,其包括:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分;离子组分;表面活性剂以及液体稀释剂。

[0166] 在一些实施例中,本公开的组合物进一步包括以下中的至少一者:ECL标记;用于结合分析的结合试剂;防腐剂;杀生物剂;消泡剂;过氯酸盐化合物;着色剂;化学示踪剂;固体载体;或其组合。

[0167] 在实施例中,本公开提供一种组合物,其基本上由以下组成:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分以及离子组分。在实施例中,本公开提供一种组合物,其基本上由以下组成:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分;离子组分以及表面活性剂。在实施例中,本公开提供一种组合物,其基本上由以下组成:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分;离子组分以及液体稀释剂。在实施例中,本公开提供一种组合物,其基本上由以下组成:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分;离子组分;表面活性剂以及液体稀释剂。

[0168] 在实施例中,本公开提供一种组合物,其由以下组成:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分以及离子组分。在实施例中,本公开提供一种组合物,其由以下组成:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分;离子组分以及表面活性剂。在实施例中,本公开提供一种组合物,其由以下组成:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分;离子组分以及液体稀释剂。在实施例中,本公开提供一种组合物,其由以下组成:N-丁基二乙醇胺(BDEA)或2-二丁基氨基乙醇(DBAE)或两者;pH缓冲组分;离子组分;表面活性剂以及液体稀释剂。

[0169] 在实施例中,本文中所描述的组合物包括约75mM到约300mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分及大于或约750mM的离子组分。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分、大于或约750mM的离子组分及约1.0mM的表面活性剂。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分、大于或约750mM的离子组分及水性液体稀释剂。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分、大于或约750mM的离子组分、约1.0mM的表面活性剂及水性液体稀释剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0170] 在实施例中,本文中所描述的组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约100mM到约300mM的pH缓冲组分及大于或约750mM的离子组分。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约100mM到约300mM的pH缓冲组分、大于或约750mM的离子组分及约1.0mM的表面活性剂。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约100mM到约300mM的pH缓冲组分、大于或约750mM的离子组分及水性液体稀释剂。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约100mM到约300mM的pH缓冲组分、大于或约750mM的离子组分、约1.0mM的表面活性剂及水性液体稀释剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0171] 在实施例中,本文中所描述的组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分及约500mM到约1500mM的离子组分。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分、约500mM到约1500mM的离子组分及约1.0mM的表面活性剂。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分、约500mM到约1500mM的离子组分及水性液体稀释剂。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分、约500mM到约1500mM的离子组分、约1.0mM的表面活性剂及水性液体稀释剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0172] 在实施例中,本文中所描述的组合物包括约75mM到约300mM的选自BDEA和DBAE的ECL共反应物、约200mM的pH缓冲组分及大于或约750mM的离子组分。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的选自BDEA和DBAEBDEA或DBAE的ECL共反应物、约200mM的pH缓冲组分、大于或约750mM的离子组分及约0.2到约10mM的表面活性剂。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分、大于或约750mM的离子组分及水性液体稀释剂。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分、大于或约750mM的离子组分、约0.2到约10mM的表面活性剂及水性液体稀释剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0173] 在实施例中,本文中所描述的组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分及大于或约750mM的离子组分。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分、大于或约750mM的离子组分及约0.2到约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分、约大于或约750mM的离子组分及水性液体稀释剂。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分、大于或约750mM的离子组分、约0.2到约5.0mM的TRITON X-100及水性液体稀释剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0174] 在实施例中,本文中所描述的组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分及大于或约750mM的离子组分。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分、大于或约750mM的离子组分及约0.2到约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分、大于或约750mM的离子组分及水性液体稀释剂。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分、大于或约750mM的离子组分、约0.2到约5.0mM的不含酚的非离子表面活性剂及水性液体稀释剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0175] 在实施例中,本文中所描述的组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分及大于或约750mM的离子组分。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分、大于或约750mM的离子组分及约0.2到约10mM的PEG (18) 三乙基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分、大于或约750mM的离子组分及水性液体稀释剂。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分、大于或约750mM的离子组分、约0.2到约10mM的PEG (18) 三乙基醚及水性液体稀释剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0176] 在实施例中,本文中所描述的组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分及大于或约750mM的离子组分。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE,约200mM的pH缓冲组分,约或大于750mM的离子组分及约0.2到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE、约200mM的pH缓冲组分、约或大于750mM的离子组分及水性液体稀释剂。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA或DBAE,约200mM的pH缓冲组分,约或大于750mM的离子组分,约0.2到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚及水性液体稀释剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0177] 在实施例中,本文中所描述的组合物包括约75mM到约300mM的BDEA、约200mM的Tris及大于或约750mM的氯离子。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA、约0或约100mM到约300mM的Tris及大于或约750mM的氯离子。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA、约200mM的Tris及约0或约500mM到约1500mM氯离子。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0178] 在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约

750mM的氯离子及约0.2mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约1.0mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约5mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及浓度大于其cmc的TRITON X-100。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0179] 在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约0.2mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约1.0mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约5mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及浓度大于其cmc的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0180] 在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子及约5.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0181] 在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包

括约75mM到约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子及约5.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0182] 在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约0.2mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约1.0mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约5mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及浓度大于其cmc的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0183] 在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA、约200mM的Tris及约500mM到约1500mM的氯离子。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA、约200mM的Tris、约大于或约750mM的氯离子。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0184] 在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约0.2mM到约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约0.2mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约1.0mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约5mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及浓度大于其cmc的TRITON X-100。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0185] 在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约0.2mM到约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约0.2mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约1.0mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约5mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA、约200mM的Tris、大于或约750mM的氯离子及浓度大于其cmc的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0186] 在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0187] 在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0188] 在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA,约200mM的Tris,大

于或约750mM的氯离子以及约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0189] 在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris以及约500mM到约1500mM的氯离子。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,约大于或约750mM的氯离子。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0190] 在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的TRITON X-100。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0191] 在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0192] 在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC

P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0193] 在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0194] 在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0195] 在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris以及约500mM到约1500mM的氯离子。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,约大于或约750mM的氯离子。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0196] 在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物

包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的TRITON X-100。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0197] 在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0198] 在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0199] 在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离

子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0200] 在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0201] 在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris以及约500mM到约1500mM的氯离子。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,约大于或约750mM的氯离子。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0202] 在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的TRITON X-100。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0203] 在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及

约1.0mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0204] 在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0205] 在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0206] 在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0207] 在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris以及约500mM到约1500mM的氯离子。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,约大于或约750mM的氯离子。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0208] 在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的TRITON X-100。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0209] 在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0210] 在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-

121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0211] 在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0212] 在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的BDEA,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0213] 在实施例中,本文所描述的组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris

以及大于或约750mM的氯离子。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约0或约100mM到约300mM的Tris以及大于或约750mM的氯离子。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris以及约0或约500mM到约1500mM氯离子。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0214] 在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的TRITON X-100。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0215] 在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的不含酚的非离子表面活性剂。

[0216] 在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0217] 在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0218] 在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM到约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0219] 在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris以及约500mM到约1500mM的氯离子。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,约大于或约750mM的氯离子。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0220] 在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的TRITON X-100。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0221] 在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合

物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0222] 在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0223] 在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0224] 在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约

200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约75mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0225] 在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris以及约500mM到约1500mM的氯离子。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,约大于或约750mM的氯离子。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0226] 在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的TRITON X-100。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0227] 在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0228] 在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约

200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0229] 在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0230] 在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约100mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0231] 在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris以及约500mM到约1500mM的氯离子。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,约大于或约750mM的氯离子。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施

例中,组合物的pH是约7.8。

[0232] 在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的TRITON X-100。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0233] 在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0234] 在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,

7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0235] 在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0236] 在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约150mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0237] 在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris以及约500mM到约1500mM的氯离子。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,约大于或约750mM的氯离子。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0238] 在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的TRITON X-100。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0239] 在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0240] 在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0241] 在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离

子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0242] 在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约200mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0243] 在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris以及约500mM到约1500mM的氯离子。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,约大于或约750mM的氯离子。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0244] 在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的TRITON X-100。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的TRITON X-100。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0245] 在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的不含酚的非离子表面活性剂。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0246] 在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离

子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-d-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58或TWEEN 20。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0247] 在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123或PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0248] 在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM到约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约0.2mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约1.0mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约5mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及约10mM的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物包括约300mM

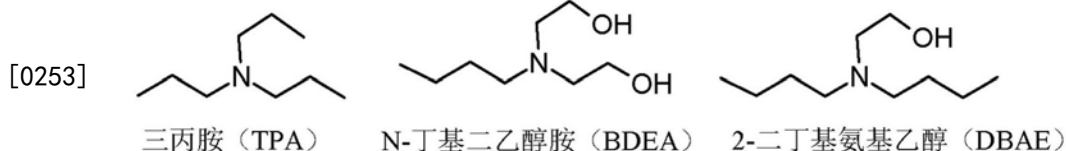
的DBAE,约200mM的Tris,大于或约750mM的氯离子以及浓度大于其cmc的PEG (18) 十三基醚。在实施例中,组合物的pH是约7.0到约8.0。在实施例中,组合物的pH是约7.5。在实施例中,组合物的pH是约7.8。

[0249] 6. 实例

[0250] 以下实例说明属于本公开的范围的一些电极、培养板、试剂盒及方法。当然其不应视为以任何方式限制本公开。所属领域的一般技术人员无需过多实验就可对本公开进行诸多改变和修改。

[0251] 实例I:ECL共反应物的比较

[0252] 用三种不同ECL共反应物制备ECL读取缓冲液:三丙胺(TPA)、N-丁基二乙醇胺(BDEA)及2-二丁基氨基乙醇(DBAE)。当与TPA(蒸气压=2.9mm Hg,沸点=156℃)相比时,BDEA和DBAE具有低挥发性(蒸气压=0.1mm Hg和1mm Hg)、高沸点(446℃及273-275℃)、低可燃性、高水溶性及低气味。含有TPA的读取缓冲液为MSD读取缓冲液T(1X)(Meso Scale Discovery)。除了用BDEA或DBAE替代TPA以外,使用相同调配物(125mM共反应物、200mM Tris-HCl、50mM KCl、0.1% (v/v) TRITON X-100,用HCl调节到pH 7.8)制备BDEA和DBAE读取缓冲液。另外,除了省略表面活性剂(TRITON X-100)以外,制备与上文所描述的TPA和BDEA读取缓冲液类似的两种额外读取缓冲液。



[0254] 使用MSD MULTI-ARRAY抗生蛋白链菌素板(Meso Scale Discovery)实施ECL测量。培养板的各孔具有集成的碳墨工作电极,其上负载有抗生蛋白链菌素的固定层。在使用之前,各孔用含有TWEEN 20的磷酸盐缓冲盐水(PBST)洗涤。为测量来自ECL标记的ECL信号,培养板的一些孔用含有低浓度牛IgG的溶液培育,所述牛IgG用生物素NHS酯(以提供与培养板的结合)和SULFO-TAG NHS酯(ECL标记;Meso Scale Discovery)两者标记。为在不存在标记的情况下测量ECL背景,除了省略经标记的牛IgG以外,将一些孔用相同溶液培育。在室温下振荡培育以允许经标记的IgG与抗生蛋白链菌素涂覆的电极结合之后,各孔用PBST洗涤且添加测试读取缓冲液中的一者。接着使用ECL板读取器(MSD SECTOR Imager 6000,Meso Scale Discovery)测量ECL。

[0255] 图1A和1B展示对于含有表面活性剂(TRITON X-100)的读取缓冲液,BDEA、DBEA及TPA皆在存在ECL标记的情况下提供类似特异性信号(图1A)且在不存在ECL标记的情况下提供类似背景信号(图1B),从而展示BDEA和DBEA是TPA的潜在替代物。与表面活性剂(且具体来说,含有芳香族醚的表面活性剂,例如TRITON X-100)在含有TPA的读取缓冲液存在下对ECL的已知益处一致,无表面活性剂的TPA读取缓冲液的特异性信号大体上小于含有表面活性剂的TPA读取缓冲液的特异性信号。相比来说,含有BDEA的读取缓冲液中省略表面活性剂对特异性信号的影响最小。

[0256] 图1C将如图1A和1B所描述的含有表面活性剂的BDEA读取缓冲液与类似的读取缓冲液进行比较,不同的处在于用磷酸盐作为缓冲组分替代Tris pH缓冲组分。所述图展示由于特异性信号的损失及背景信号的增加两者,使用磷酸盐作为缓冲组分会导致性能降低。

[0257] 实例II：使用基于BDEA的读取缓冲液的免疫分析

[0258] 在MSD V-PLEX促炎性组1试剂盒(Meso Scale Discovery)中使用10种多重分析，将用于多重夹心免疫分析的基于BDEA的读取缓冲液的性能与常规的基于TPA的读取缓冲液进行比较。所述试剂盒使用MSD MULTI ARRAY培养板，其中各孔于底部上具有集成的网版印刷碳墨电极和针对固定于电极上的10种分析物的10重捕捉抗体阵列。除了使用含有BDEA的ECL读取缓冲液以外，根据试剂盒说明书进行分析。简单来说，(i)在添加样品之前洗涤各培养板；(ii)将50 μ L样品(含有于试剂盒分析稀释液中稀释的各分析物的校准标准物)添加到各孔中；(iii)在振荡下将各培养板培育120分钟以允许分析物结合捕捉抗体且接着洗涤以去除未结合样品；(iv)将试剂盒抗体稀释液中10种分析物的10种经标记检测抗体(用MSD SULFO-TAG NHS酯标记)的25 μ L混合物添加到各孔中；(v)在振荡下将各培养板培育90分钟以允许检测抗体结合捕捉分析物且接着洗涤以去除未结合检测抗体；(vi)添加150 μ L ECL读取缓冲液且在MSD SECTOR Imager 6000板读取器中测量ECL。

[0259] 图2A将使用TPA和BDEA读取缓冲液测量的信号与各共反应物的优化浓度进行比较：由试剂盒指定的常规的含有TPA的读取缓冲液(MSD读取缓冲液T(2X))和如实例1中所描述的含有BDEA的读取缓冲液。展示含有属于所述分析的定量范围中间某处的各分析物的浓度的“Mid-Cal”样品和作为未添加任何分析物的试剂盒分析稀释液的“NSB”样品的信号。所述图提供各分析物/阵列元件的测量ECL信号和标准化为使用TPA读取缓冲液测量的信号的ECL信号。各值表示240个重复(5个分析培养板 $\times$ 每培养板48个重复)的平均值，在某些情况下，在使用格罗斯曼检验(Grossman test)使用99%置信区间去除离群值后。所述图还提供针对5个培养板中的各者所测量的培养板内变化系数(CV)的平均值(板内CV)，以及各培养板中平均信号的变化系数(板间CV)。结果展示在其优化浓度下，基于TPA和BDEA的读取缓冲液在分析物存在下提供类似信号(使用基于BDEA的读取缓冲液的Mid-Cal样品的标准化信号属于90%与140%之间)。BDEA读取缓冲液的可变性(如由CV表示)与TPA读取缓冲液相比平均类似或略微较好。出乎意料地，当使用BDEA缓冲液时，NSB样品信号(表示来自检测抗体与捕捉阵列元件的非特异性结合的非所要的非特异性背景信号)极高(一个阵列元件上的标准化NSB信号接近300%)。

[0260] 图2B展示重复上文关于图2A所述的实验的结果，不同的处在于使用进一步优化的BDEA读取缓冲液且每种条件仅测试4个培养板。读取缓冲液的组成如实例1中描述，但具有略微较高的BDEA浓度(150mM)且还包含800mM NaCl。高盐含量的添加对用Mid-Cal样品测量的特异性信号仅具有轻微的影响(标准化信号在约75%到125%的范围内)，但具有大幅度降低与NSB样品的非特异性结合的出人意料的能力(最高标准化的NSB信号是152%，但大部分主要在约75%到125%的范围内)。

[0261] 实例III：经优化BDEA读取缓冲液的稳固性

[0262] 这一实例展示数个实验的结果，所述实验将经优化BDEA读取缓冲液(如上文关于图2B所描述)和常规的TPA读取缓冲液的稳固性与环境和组成变化的不同潜在来源进行比较。使用与MSD抗生蛋白链菌素板结合的生物素和SULFO-TAG标记的牛IgG产生特异性信号(如实例1中所描述)。

[0263] 图3A展示读取缓冲液pH对来自不存在经标记IgG的情况下测量的经结合标记IgG和背景ECL(背景ECL)的特异性ECL信号(ECL)的影响。结果展示为相对于在pH 7.8下测

量的值的变化%。对于BDEA读取缓冲液(实心圆符号),在pH 7.7到7.9的范围内测量的特异性ECL信号在pH 7.8下测量的信号的5%内,但并不针对两种常规的含有TPA的读取缓冲液(MSD读取缓冲液T(MSD T) 1X和2X,分别为菱形和空心圆)。相比于读取缓冲液T(1X)的每pH单元161%和读取缓冲液T(2X)的每pH单元93%,对于BDEA读取缓冲液,特异性ECL信号在相同pH范围内变化的斜率约是每pH单元7.4%,从而表明经优化BDEA调配物对pH变化的敏感度低得多。

[0264] 图3B展示在不同读取缓冲液存在下温度对ECL产生的影响。当温度在约18℃与30℃之间变化时,当经优化BDEA调配物用作读取缓冲液时,抗生蛋白链菌素板上的生物素和SULFO-TAG标记的IgG的特异性信号(报导为在21.8℃下信号的变化%)保持在10%/21.8℃的值内,但当使用常规TPA读取缓冲液(MSD读取缓冲液T(2X))时展示大得多的变化。相比于读取缓冲液T(2X)的每℃3.9%,对于BDEA读取缓冲液,特异性ECL信号在测试温度范围内变化的斜率是约每℃1.6%,从而表明经优化BDEA调配物对温度变化的敏感度低得多。

[0265] 图3C展示在不同读取缓冲液存在下共反应物浓度对ECL产生的影响。BDEA在经优化BDEA读取缓冲液调配物中的浓度从标称浓度(1×,125mM)的0.8倍(0.8×,100mM)变化到1.4倍(1.4×,175mM)。在这些浓度范围内,测量的特异性ECL信号几乎无变化(其保持在1×条件的5%内)。如果调配物中省略TRITON X-100,那么观察到类似的信号和行为。结果展示BDEA读取缓冲液将对由BDEA原材料中的差异或由于制造可变性导致的BDEA浓度变化相对不敏感。

[0266] 图3D展示对BDEA读取缓冲液中的所有组分进行稀释或浓缩的影响。所有组分在经优化BDEA读取缓冲液调配物中的浓度从标称浓度(1×)的0.8倍(0.8×)变化到1.4倍(1.4×)。在0.8×到1.2×的范围内,用BDEA调配物测量的特异性信号保持在1×条件的10%内,而用TPA读取缓冲液(MSD读取缓冲液T 2X)测量的特异性信号的变化大致是BDEA调配物的变化的两倍大。结果展示BDEA读取缓冲液对稀释的变化相对不敏感,例如用户在通过复原干试剂或稀释液体浓缩物制备BDEA读取缓冲液中的错误。

[0267] 图3E展示在不同读取缓冲液(TPA读取缓冲液、MSD读取缓冲液T(2X)及BDEA调配物)存在下及在7.60到7.90范围内的各种pH下,温度对ECL产生的影响。图3F展示在不同温度和pH下,在TPA读取缓冲液和BDEA调配物存在下,ECL信号的背景变化%。相比于读取缓冲液T(2X)的每℃6%,对于BDEA读取缓冲液,特异性ECL信号在pH 7.80下在测试温度范围内变化的斜率是每℃小于1%,从而进一步表明BDEA读取缓冲液在不同温度下的稳固性。

[0268] 图4展示施加到抗生蛋白链菌素MULTI-ARRAY培养板中的抗生蛋白链菌素涂覆的电极的不同电压波形的影响。标绘图展示在不同持续时间(1.5与12秒之间,取决于斜坡电压)内施加的4个不同电压斜坡(2.0到5.0V、2.5到4.5V、3.0到4.5V及3.0到5.0V)的特异性信号(ECL)和背景信号(背景ECL)。斜坡率是通过斜坡电压和持续时间来测定;例如,在3秒持续时间内的2.0到5.0V的斜坡将具有 $(5V-2V)/3s=1V/s$ 的斜坡率。所述图展示对于给定斜坡,背景ECL随基于TPA和BDEA的读取缓冲液两者的持续时间而增加。相比之下,当使用TPA读取缓冲液(MSD读取缓冲液T 2X)时,特异性ECL随持续时间增加,但当使用BDEA读取缓冲液时,所述特异性ECL相对地独立于持续时间。结果展示BDEA调配物更耐受ECL激发条件的变化,且还展示用BDEA读取缓冲液可达成更快的波形和测量,而不损失敏感度。

[0269] 实例IV:具有替代表面活性剂的BDEA读取缓冲液

[0270] 用实例2的经优化高盐调配物的组合物制备多种含有BDEA的ECL读取缓冲液,不同的处在于用0.5mM各种替代的更温和表面活性剂替代1mM TRITON X-100组分(或省略表面活性剂作为对照)。图5A展示在这一实验中测试的表面活性剂。图5B展示,相对于无表面活性剂的读取缓冲液,添加表面活性剂导致读取缓冲液的液-气表面张力显著降低(如通过悬垂液滴的形状确定)。小于40达因/厘米的表面张力为可重复成像到96孔板的孔中提供一致的半月板形状。

[0271] 通过测量与MSD抗生蛋白链菌素板结合的生物素和SULFO-TAG标记的牛IgG的特异性信号以及在不存在经标记IgG的情况下的同一系统中测量的背景信号(如实例1中描述),来测量不同读取缓冲液中ECL产生的效率。特异性ECL信号(图6A)和背景ECL信号(图6B)明显地与表面活性剂结构无关;特异性信号皆在10%内,且背景信号皆在含有TRITON X-100的读取缓冲液的所测量值的10个ECL单位内。

[0272] 不同读取缓冲液调配物用于具有脂质双层膜(呈现CD9表面蛋白的细胞外囊泡)的表面活性剂敏感性生物结构的分析。用固定于其集成碳墨工作电极上的针对CD9的捕捉抗体制备MSD MULTI-ARRAY板。将孔与含有细胞外囊泡的样品一起培育。接着洗涤孔以去除未结合样品且与含有针对CD9的SULFO-TAG标记的检测抗体的溶液一起培育,以使标记的检测抗体与捕捉的细胞外囊泡结合。接着洗涤各孔以去除未结合的检测抗体且添加读取缓冲液。接着立即在MSD SECTOR Imager 6000ECL板读取器上分析各培养板(时间=0),或在ECL测量之前培育15分钟(时间=15)。图7展示测量的ECL信号。所述图展示即使在时间=0时,捕捉的细胞外囊泡暴露于含有TRITON X-100的读取缓冲液会导致信号几乎完全损失,其大概是由于囊泡的裂解所致。相比之下,除了BRIJ C10给出仍在约20%内的信号以外,所有其它读取缓冲液在时间=0时给出在彼此的约5%内的信号。此外,当培养板在读取缓冲液中培育15分钟时,除了含有TRITON X-100、BRIJ C10、BRIJ S10及BRIJ S20的那些读取缓冲液以外,所有读取缓冲液显示小于5%的信号变化,从而表明其余表面活性剂(KOLLIPHOR P-407、PLURONIC P-123、PLURONIC L-121、PLURONIC 31R1、TETRONIC 701、2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物、PEG (18) 十三基醚、BRIJ L4、BRIJ 58及TWEEN 20)并未破坏捕捉的细胞外囊泡或引起经结合的经SULFO-TAG标记的检测抗体的解离。

[0273] 读取缓冲液调配物极其稳定;这些调配物在暗处于50℃下的稳定性加速测试展示在大多数情况下,其性能变化极小或不显著,除了TWEEN 20、PLURONIC 31R1及TETRONIC 701调配物在暴露于这一温度220天之后产生的特异性信号降低约25%以外。所述调配物对于表面活性剂浓度的变化也为稳定的。图8展示PEG (18) 十三基醚的浓度在0.5与4mM之间变化对于CD9细胞外囊泡分析中的特异性ECL信号,或对于捕捉的结合反应产物在读取缓冲液中培育15分钟的稳定性无显著影响。

[0274] 实例V:免疫分析解离速率

[0275] 针对各种分析物的不同捕捉和检测抗体,在抗体筛选实验中测试含有TPA (MSD T2X) 和BDEA的读取缓冲液。图9A到9D展示针对sRange (图9A)、IL-9 (图9B)、Kim-1 (图9C) 及MIG (图9D) 的抗体筛选的平均ECL损失%,其指示抗体与分析物之间(例如,捕捉抗体和/或检测抗体与分析物之间)的解离速率。在各抗体筛选中,与TPA读取缓冲液相比,BDEA读取缓冲液的ECL损失%减少,从而表明相对于TPA读取缓冲液,BDEA读取缓冲液可减小抗体-分析物解离速率。

[0276] 图10A到10C进一步展现在分析物IL-13 (图10A)、MDC (图10B) 及TNF- β (图10C) 的多组实验中,与TPA读取缓冲液相比,BDEA的抗体-分析物解离速率的改善。在各实验中,BDEA读取缓冲液展示抗体-分析物解离速率降低,而BDEA读取缓冲液的非特异性背景信号 (NSB) 相对于TPA读取缓冲液为相当的或有所改善。

[0277] 实例VI:细胞外囊泡分析

[0278] 在完整的细胞外囊泡 (EV) 分析中测试含有不同浓度的TRITON X-100的TPA读取缓冲液 (MSD T1X) 和BDEA读取缓冲液的性能。测量各缓冲液类型和TRITON X-100浓度的EV分析信号变化。

[0279] 结果展示于图11A中。随着TRITON X-100浓度从0.1%降低到0.01%,MSD T1X分析性能得到改善。随着TRITON X-100浓度从0.01%进一步降低到0%,MSD T1X分析性能下降。在所有测试的缓冲液类型和TRITON X-100浓度中,含有0.1%TRITON X-100的BDEA读取缓冲液具有较低的分析性能,而含有0%TRITON X-100的BDEA读取缓冲液具有最优的分析性能。

[0280] 测试含有不裂解EV的表面活性剂的BDEA读取缓冲液的分析性能可变性。针对两个不同批次的非TRITON BDEA读取缓冲液,产生使用已知浓度的CD81+EV的滴定曲线。结果展示于图11B中。两个测试批次的非TRITON BDEA读取缓冲液具有极其类似的滴定曲线,从而表明批次间的性能可变性较低。

[0281] 7. 参考文献的并入

[0282] 本公开的范围不受本文所描述的特定实施例限制。实际上,根据前述描述及附图,除了本文中所描述的修改的外,本公开的各种修改对熟习所属领域者来说还将变得显而易见。此类修改打算属于权利要求书的范围内。本文中引用各种公开案,其公开内容以全文引用的方式并入。

[0283] 本公开的所描述实施例及实例打算为示范性的而非限定性的,且并不打算代表本公开的每一实施例或实例。虽然已展示、描述且指出本公开的基本新颖的特征适用于其各种特定实施例,但还将应理解,在不脱离本公开的精神的情况下,熟习所属领域者可对所说明装置的形式及细节以及其操作做出各种省略、取代及改变。举例来说,明确打算以大体上相同的方式执行大体上相同的功能以达成相同结果的那些元件和/或方法步骤的所有组合皆在本公开的范围。此外,应认识到,结合本公开的任何所公开形式或实施例所展示和/或描述的结构和/或元件和/或方法步骤可作为设计选择的一般情况并入任何其它所公开或描述或建议的形式或实施例中。此外,在不脱离如在以下权利要求书中从字面上及法律上公认的等效物中所阐述的本公开的精神或范围的情况下,可进行各种修改及改变。

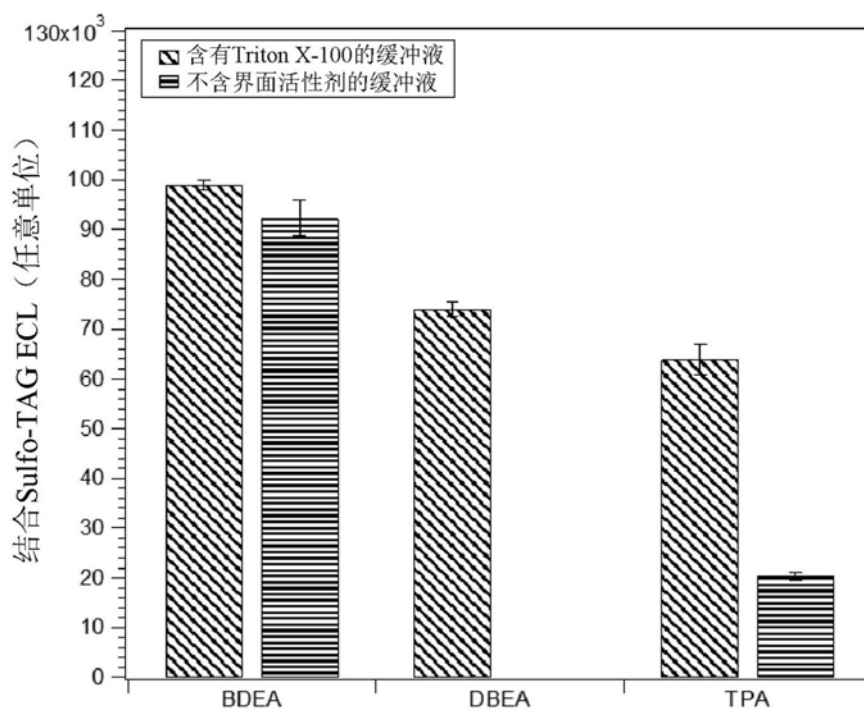


图1A

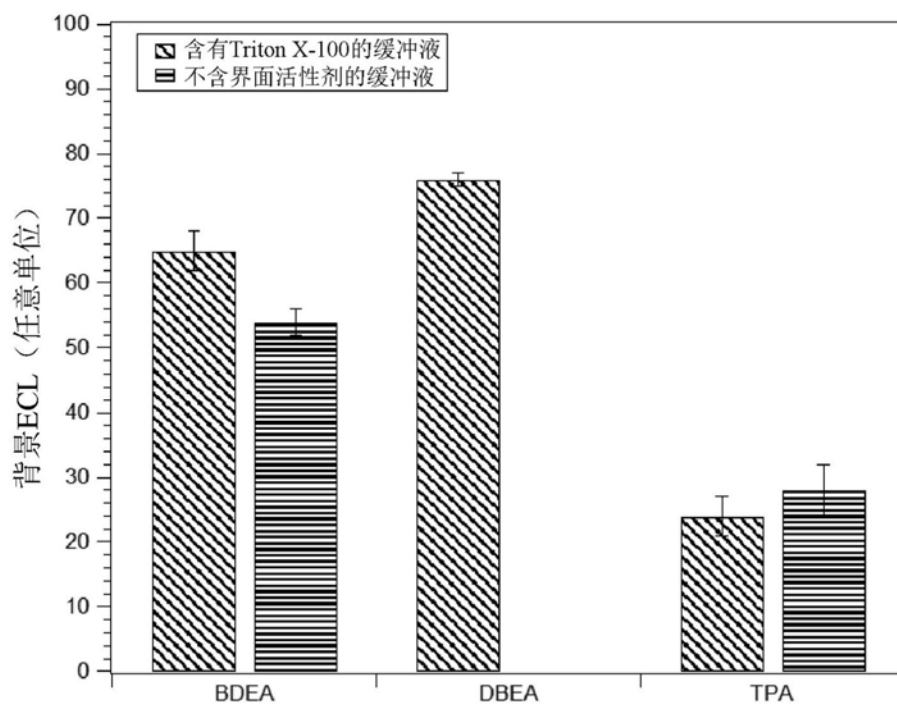


图1B

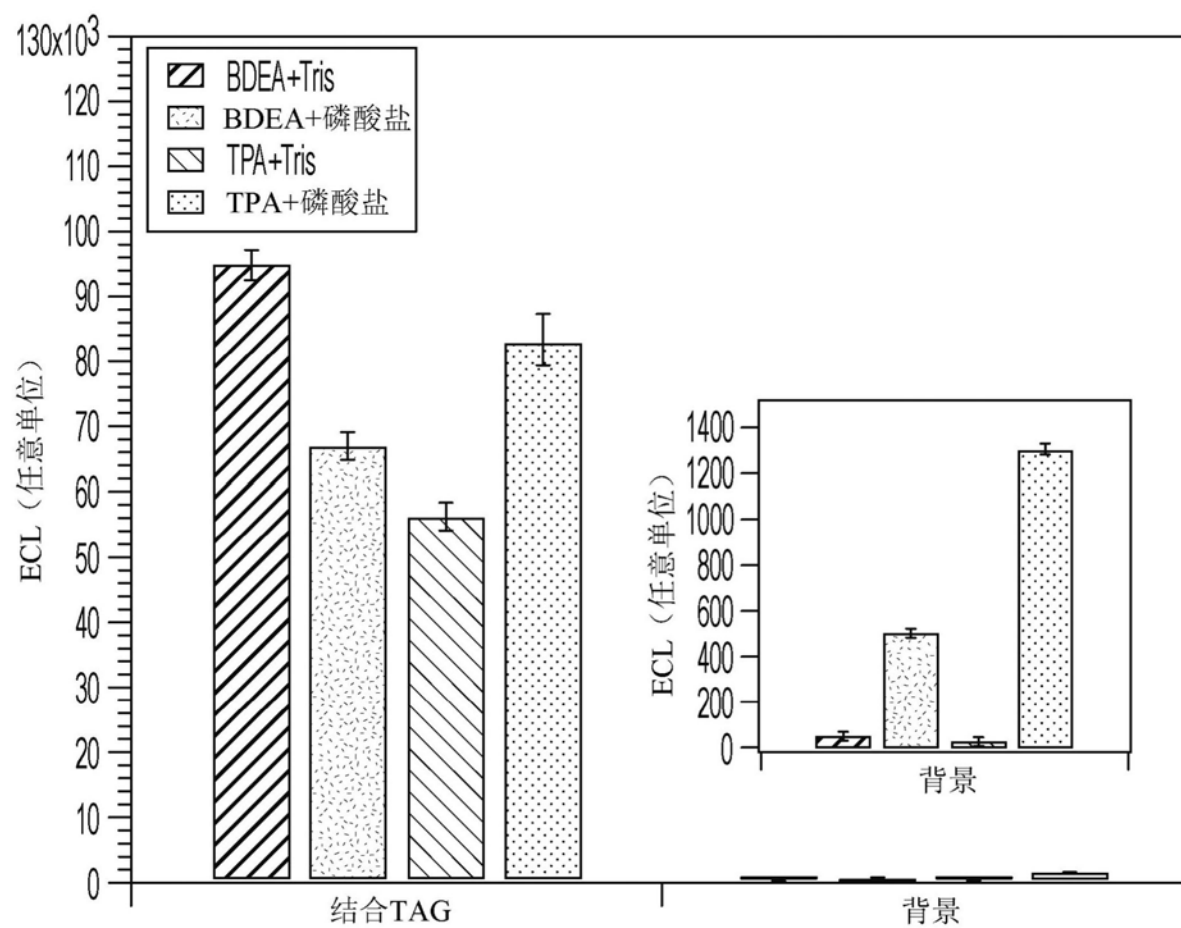


图1C

分析		信号		信号 (标准化)		CV (板内)		CV (板间)	
		TPA	BDEA	TPA	BDEA	TPA	BDEA	TPA	BDEA
Mid-Cal	IFN- γ	11,025	12,090	100%	110%	3.9%	3.3%	2.2%	3.0%
	IL-1 β	59,532	58,779	100%	99%	4.0%	3.8%	2.1%	1.9%
	IL-2	42,754	45,724	100%	107%	2.9%	2.7%	3.0%	2.7%
	IL-4	25,038	27,079	100%	108%	4.9%	4.4%	2.4%	1.4%
	IL-6	32,282	31,396	100%	97%	4.7%	4.2%	6.5%	4.6%
	IL-8	18,141	17,981	100%	99%	3.7%	3.8%	3.2%	4.9%
	IL-10	22,363	25,758	100%	115%	3.3%	2.9%	2.2%	1.7%
	IL12p70	10,515	10,829	100%	103%	6.6%	6.4%	3.7%	2.8%
	IL-13	7,977	11,148	100%	140%	5.5%	4.5%	3.2%	3.9%
	TNF- α	8,639	8,329	100%	96%	4.4%	4.2%	2.6%	2.8%
	平均值	23,827	24,623	100%	107%	4.4%	4.0%	3.1%	3.0%
NSB	IFN- γ	534	1,127	100%	211%	7.3%	6.4%	15.0%	20.9%
	IL-1 β	1,788	5,321	100%	298%	7.3%	9.6%	13.8%	5.6%
	IL-2	321	592	100%	185%	14.2%	6.6%	16.4%	10.9%
	IL-4	175	262	100%	150%	20.5%	19.9%	20.5%	17.9%
	IL-6	215	374	100%	174%	12.4%	9.6%	13.4%	9.9%
	IL-8	272	421	100%	155%	9.8%	9.7%	17.7%	17.0%
	IL-10	456	884	100%	194%	8.6%	6.4%	18.5%	19.0%
	IL12p70	180	213	100%	118%	35.8%	33.2%	15.9%	22.8%
	IL-13	155	245	100%	158%	14.6%	12.9%	12.4%	12.5%
	TNF- α	189	331	100%	175%	20.5%	11.7%	14.9%	17.6%
	平均值	429	931	100%	182%	15.1%	12.6%	15.9%	15.4%

图2A

分析	信号		信号 (标准化)		CV (板内)		CV (板间)	
	TPA	BDEA+NaCl	TPA	BDEA+NaCl	TPA	BDEA+NaCl	TPA	BDEA+NaCl
Mid-Cal	IFN- γ	8,494	7,774	100%	3.3%	3.4%	4.2%	3.6%
	IL-1 β	49,770	39,585	100%	3.3%	3.3%	3.5%	4.1%
	IL-2	40,845	34,365	100%	2.8%	2.5%	3.2%	3.0%
	IL-4	31,722	28,372	100%	4.4%	4.8%	4.7%	4.9%
	IL-6	33,504	26,074	100%	4.1%	3.7%	6.3%	5.9%
	IL-8	16,029	12,887	100%	3.5%	3.5%	3.6%	4.4%
	IL-10	22,983	21,797	100%	3.4%	3.1%	3.9%	3.3%
	IL12p70	9,226	8,405	100%	6.5%	6.1%	7.3%	7.3%
	IL-13	10,451	11,703	100%	4.9%	3.8%	5.1%	4.0%
	TNF- α	9,048	7,132	100%	3.9%	3.5%	4.3%	3.5%
	平均值	23,207	19,809	100%	4.0%	3.8%	4.6%	4.4%
NSB	IFN- γ	242	367	100%	13.6%	9.9%	13.9%	12.4%
	IL-1 β	1,374	1,757	100%	9.1%	8.7%	9.7%	18.3%
	IL-2	231	214	100%	12.8%	14.7%	12.8%	15.9%
	IL-4	124	117	100%	27.6%	28.2%	28.1%	30.1%
	IL-6	148	160	100%	16.2%	14.6%	16.7%	15.8%
	IL-8	165	172	100%	13.9%	13.5%	14.8%	13.7%
	IL-10	198	245	100%	14.8%	13.2%	15.0%	14.3%
	IL12p70	151	172	100%	17.4%	17.2%	17.7%	17.8%
	IL-13	120	115	100%	19.9%	21.1%	20.3%	21.8%
	TNF- α	202	244	100%	14.4%	13.9%	15.1%	14.4%
	平均值	296	356	100%	16.0%	15.5%	16.4%	17.4%

图2B

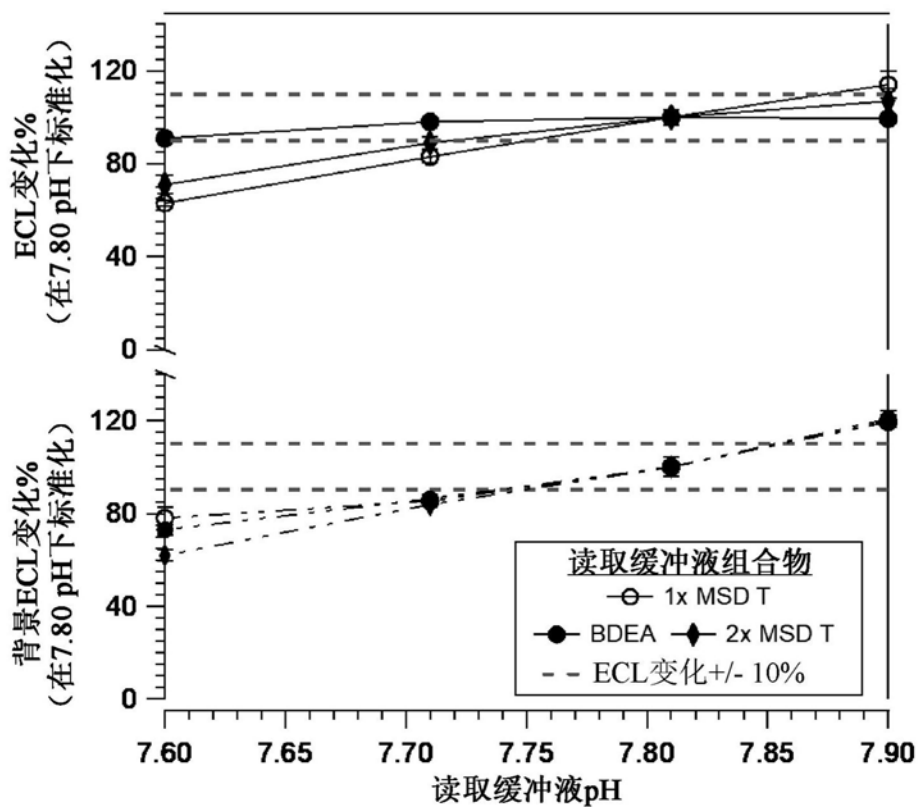


图3A

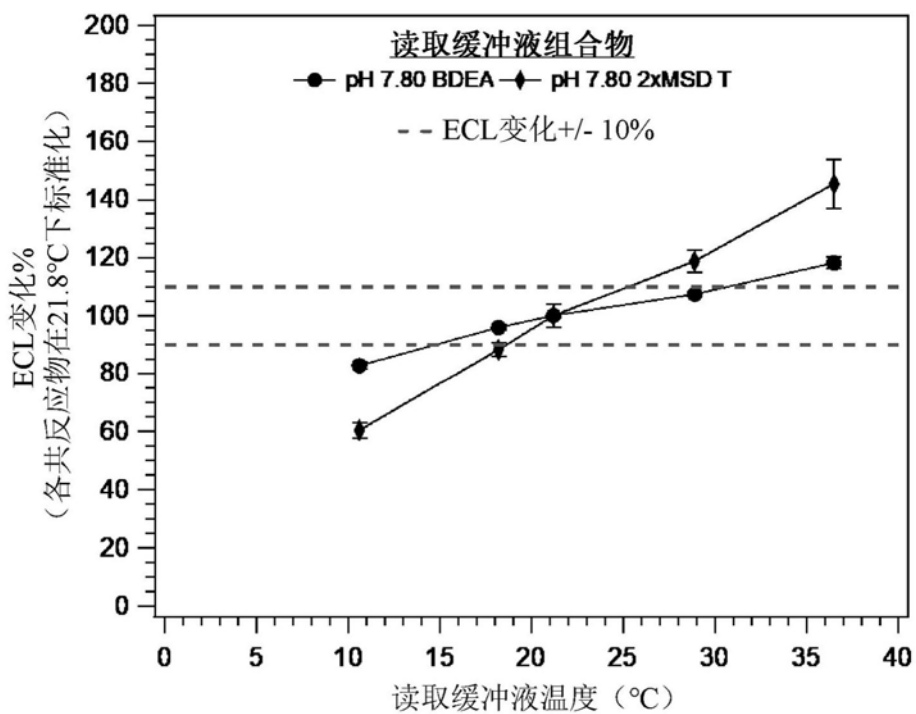


图3B

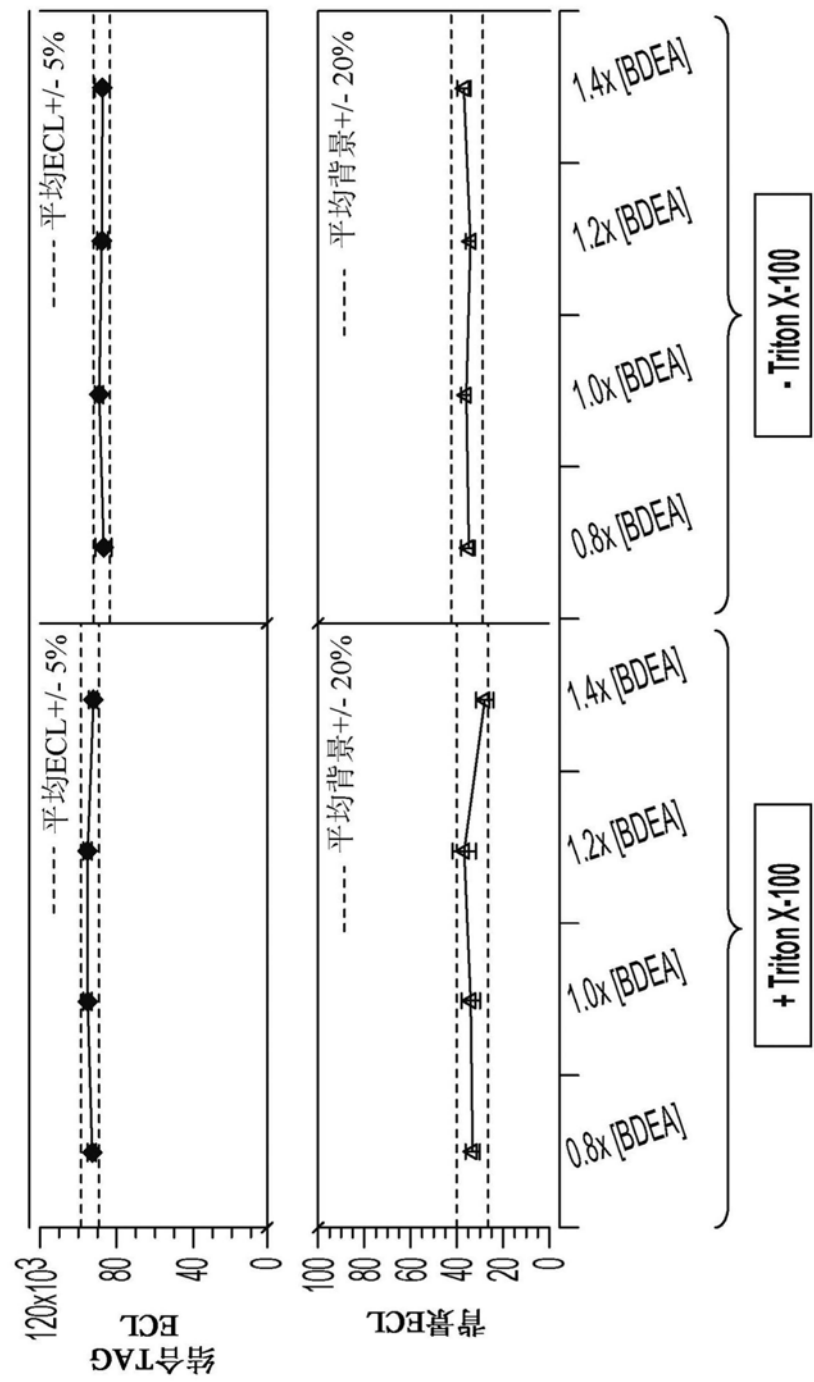


图3C

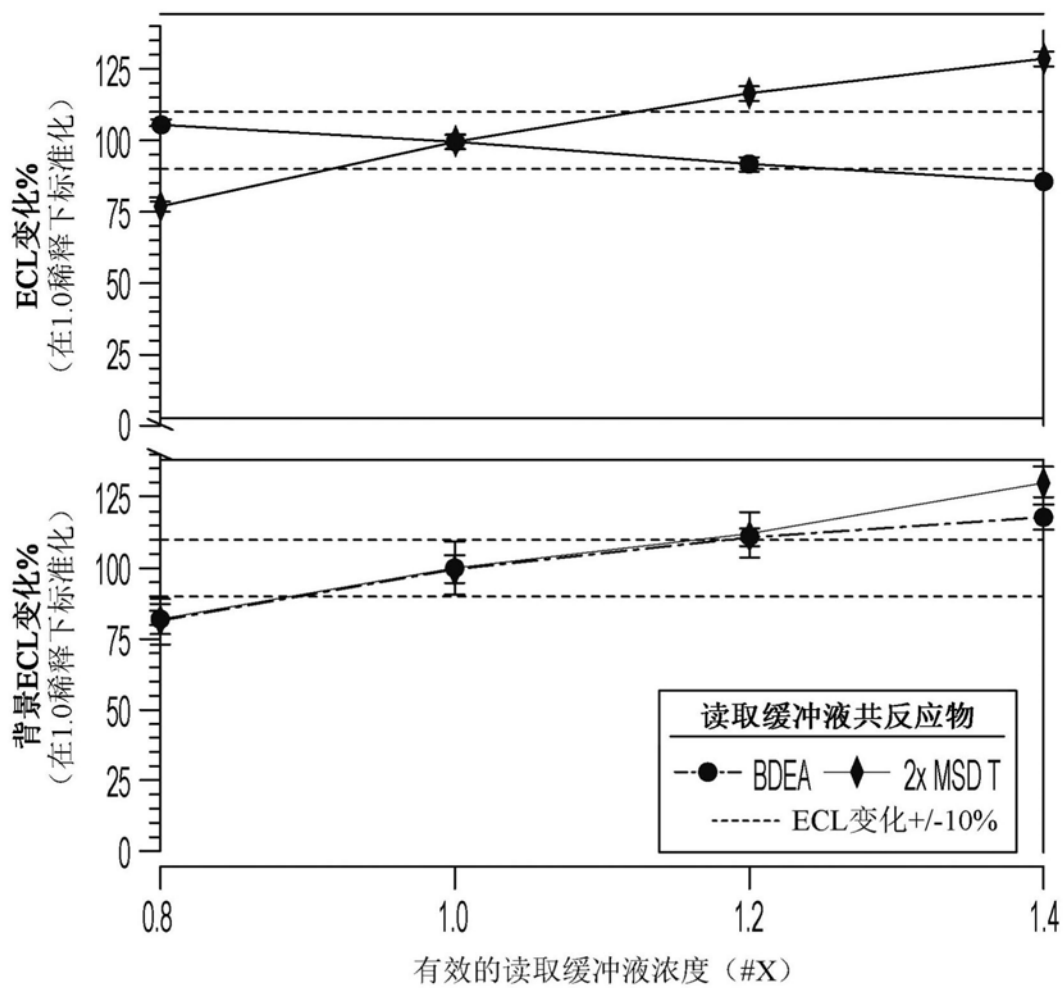


图3D

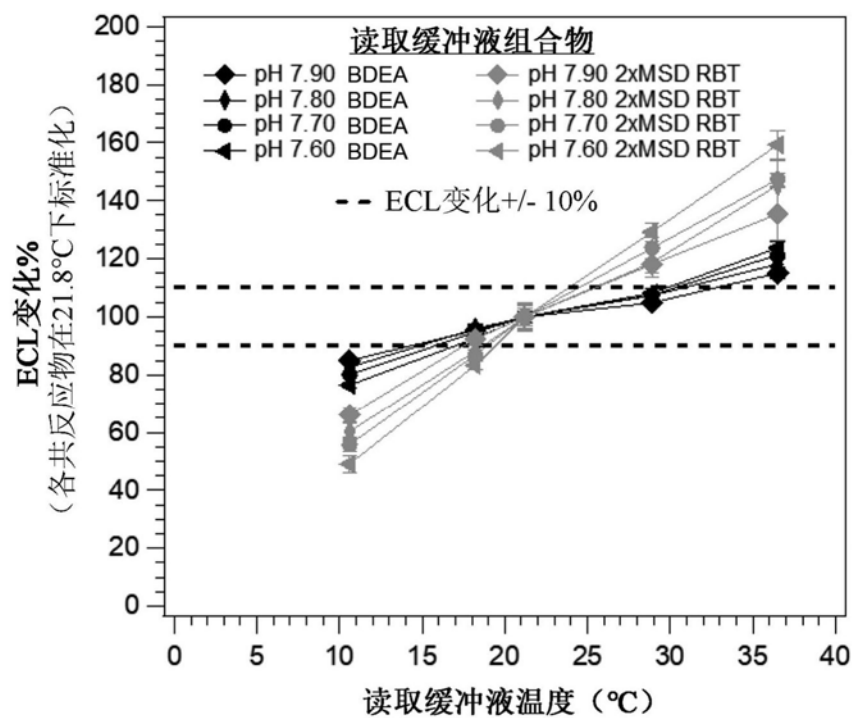


图3E

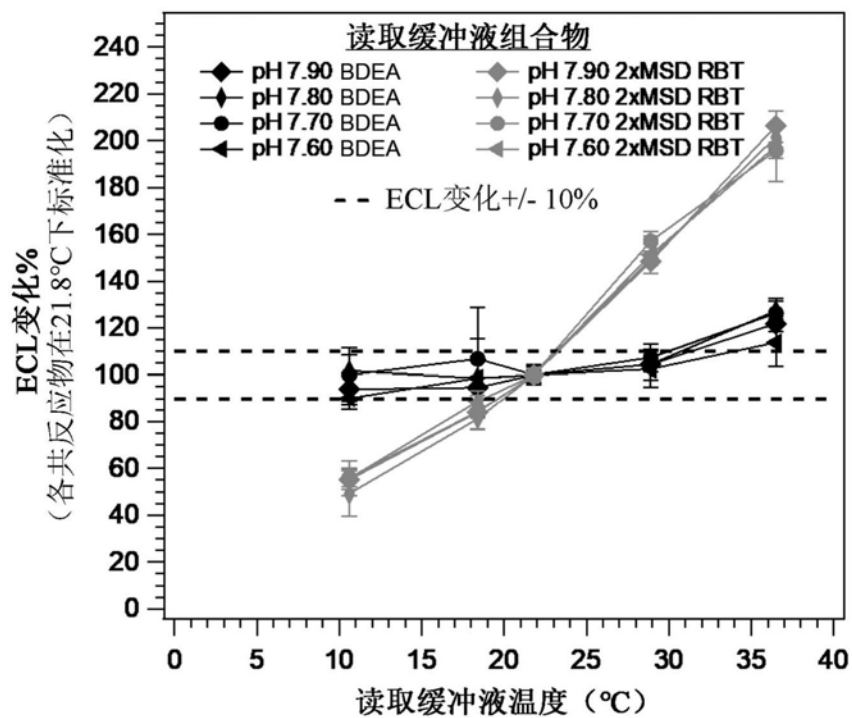


图3F

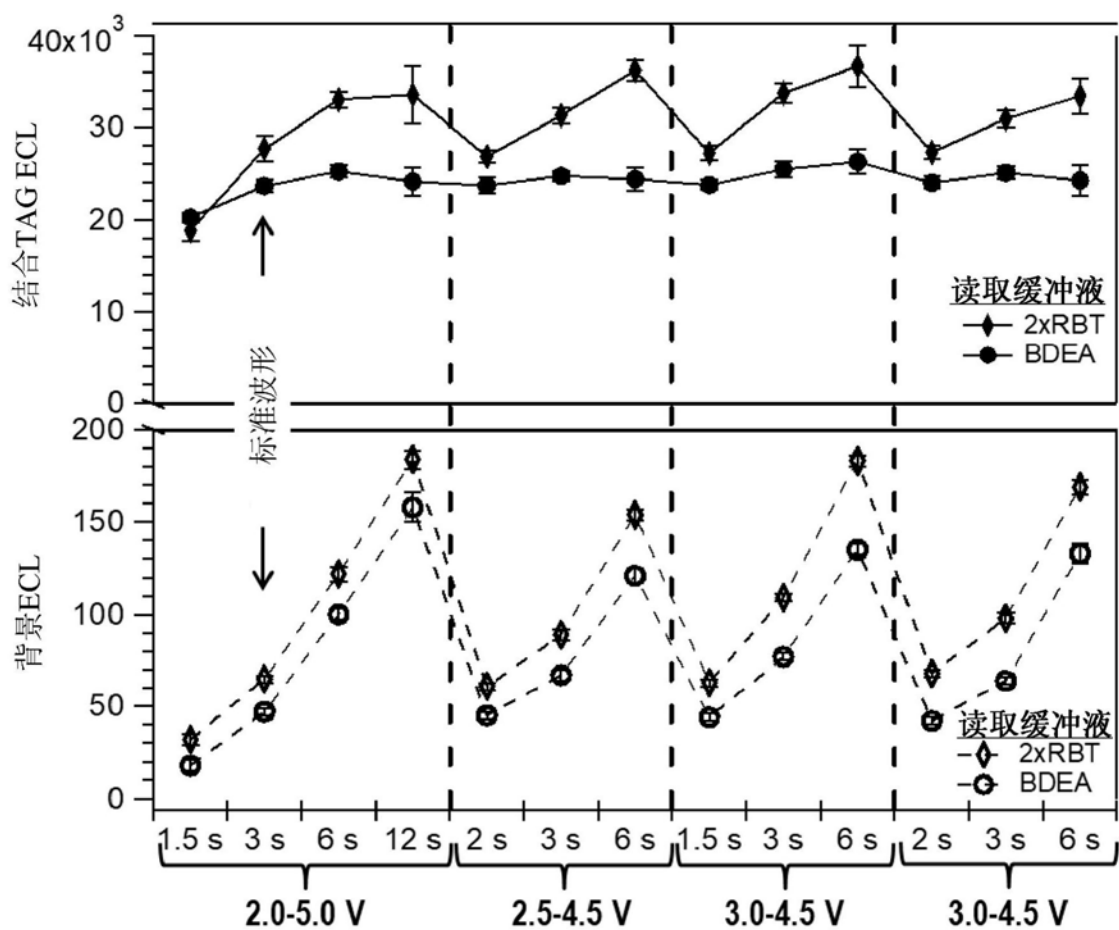


图4

表面活性剂化学结构

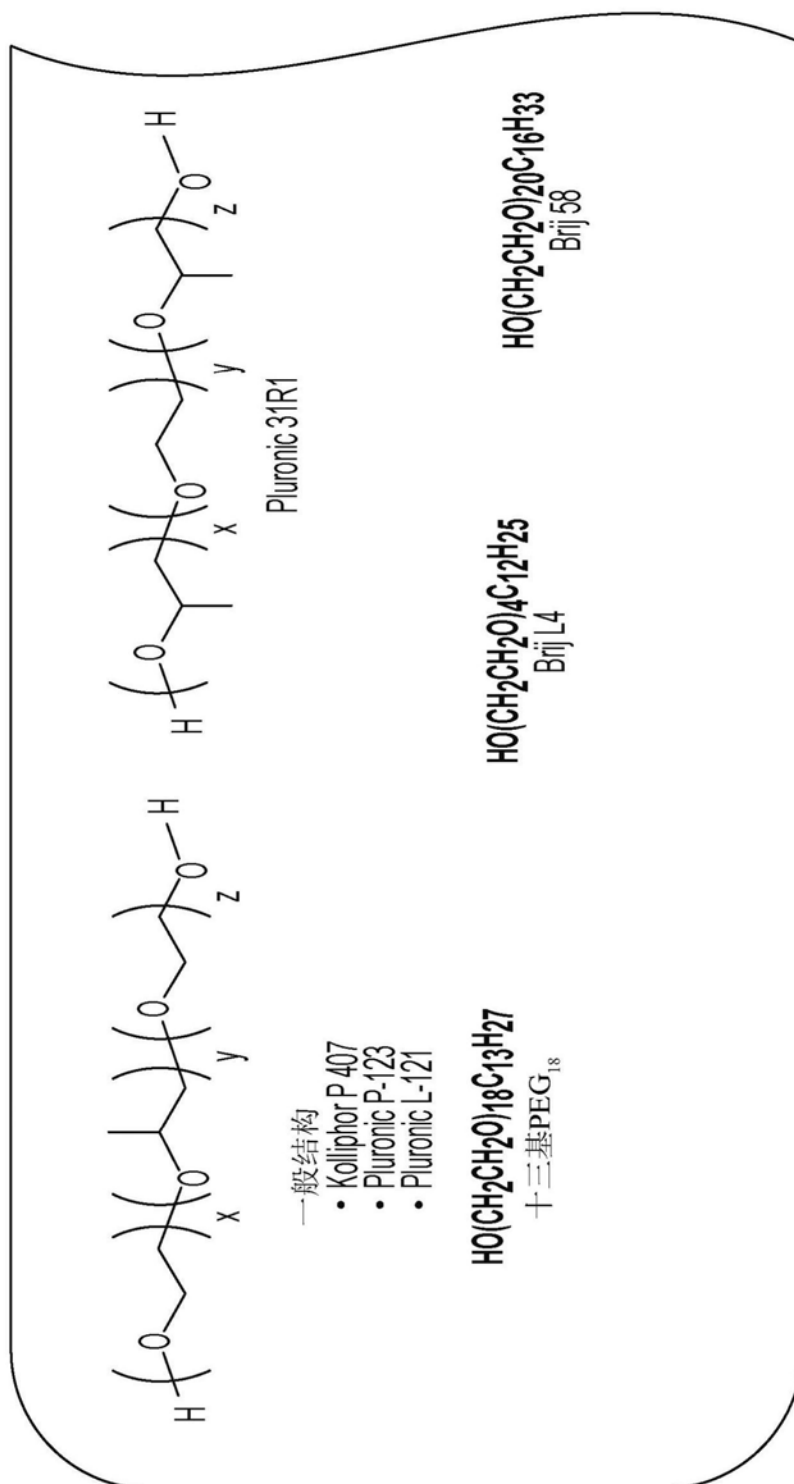


图5A

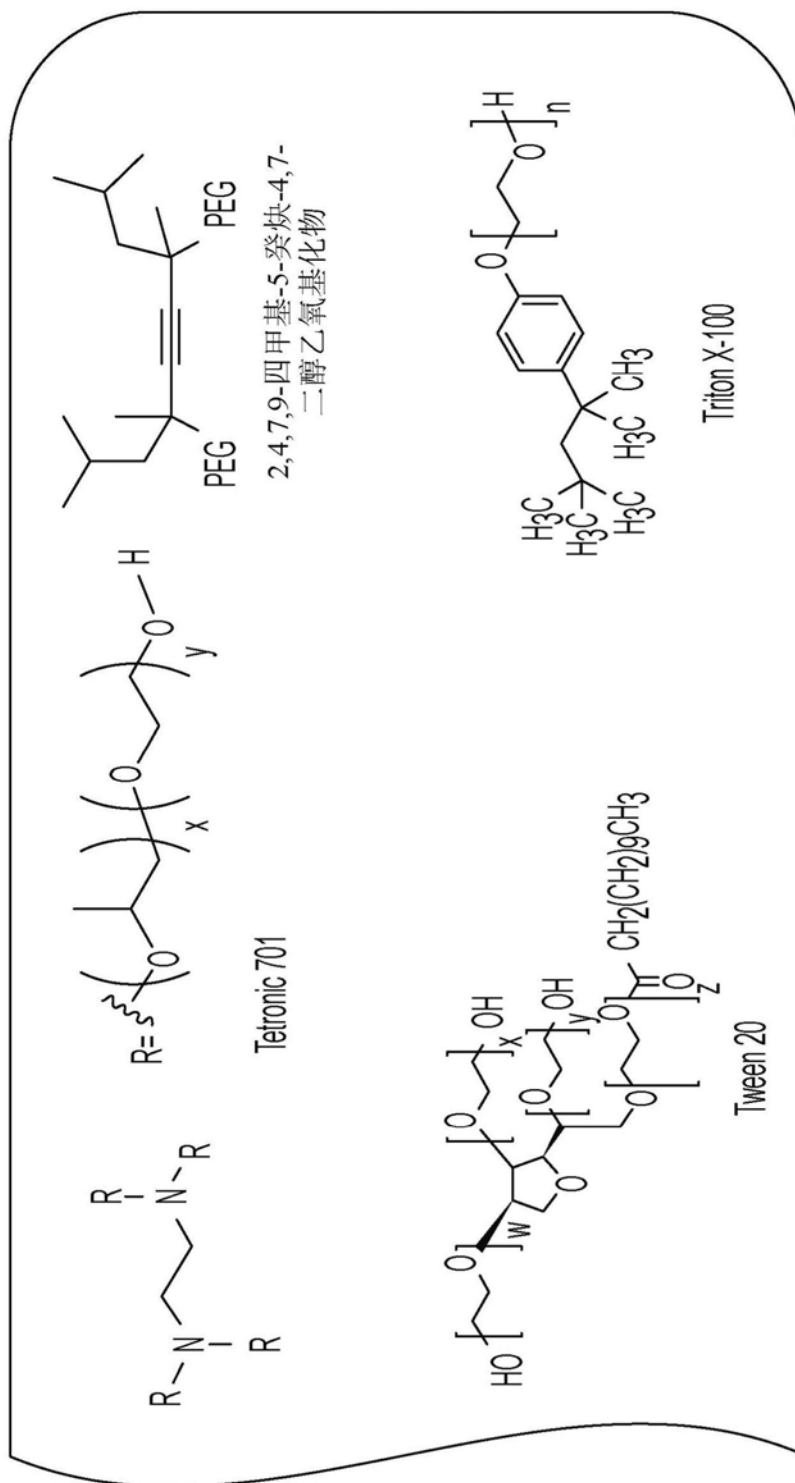


图5A (续)

读取缓冲液液体/空气界面张力

BDEA读取缓冲液中之界面活性剂	平均 $\gamma_{1/a}$ (dyn/cm)	STDEV
不含界面活性剂	53.19	0.59
L-121	42.06	0.23
P407	37.19	0.24
Tween 20	34.16	0.33
Brij 58	34.05	0.43
癸炔-3,4-二醇	33.46	0.09
31R1	32.36	0.05
Brij L4 (t=35 s)	32.30	0.21
Tetronic 701	31.20	0.11
P-123	29.60	0.12
PEG (18)-十三基	29.39	0.08
Triton X-100	27.20	0.10

图5B

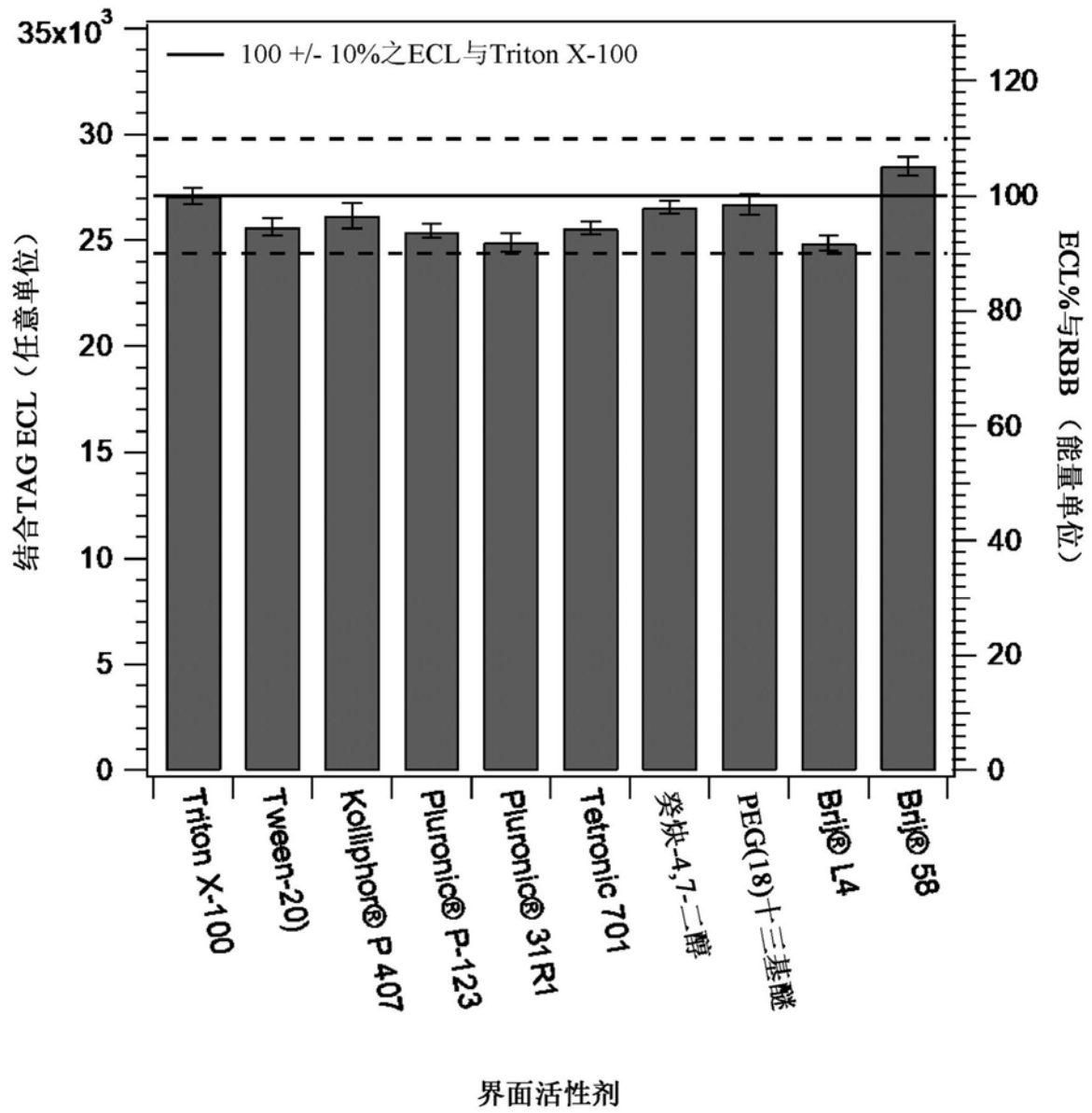


图6A

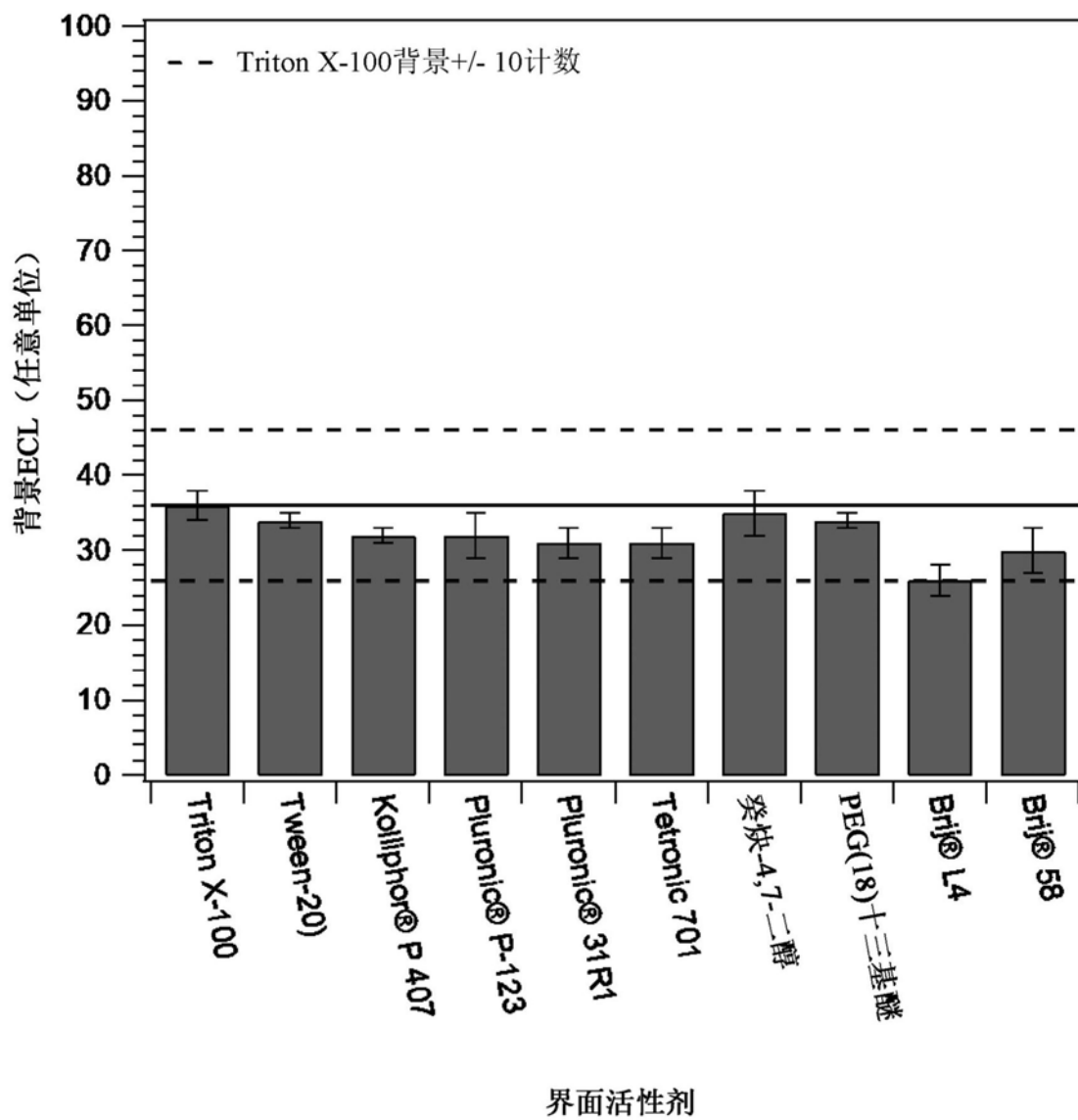


图6B

EV分析	BDEA读取缓冲液中之界面活性剂	浸泡时间 (Soak Time)	ECL	%CV (n=4)	在t=0分钟时 ECL%与Tween- 20	在t= 15分钟时 ECL%与浸泡
CD9/CD9	Tween 20	0 分钟	61933	4.1%	100.0%	103.9%
		15 分钟	64326	3.9%		
	Triton X-100	0 分钟	809	8.7%	1.3%	50.4%
		15 分钟	408	6.8%		
	Kolliphor® P 407	0 分钟	58851	5.1%	95.0%	109.2%
		15 分钟	64275	1.4%		
	Pluronic® P-123	0 分钟	61155	3.1%	98.7%	99.9%
		15 分钟	61080	3.4%		
	Pluronic® L-121	0 分钟	64643	3.1%	104.4%	104.1%
		15 分钟	67263	2.3%		
	Pluronic® 31R1	0 分钟	63193	2.9%	102.0%	96.5%
		15 分钟	60963	3.6%		
	Tetronic 701	0 分钟	59875	0.9%	96.7%	101.9%
		15 分钟	61002	5.2%		
	2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇乙氧基化物	0 分钟	60697	1.3%	98.0%	104.6%
		15 分钟	63506	4.4%		
	PEG(18)十三基醚	0 分钟	62710	2.2%	101.3%	105.1%
		15 分钟	65897	4.3%		
	Brij® L4	0 分钟	60163	2.0%	97.1%	99.6%
		15 分钟	59923	1.9%		
	Brij® C10	0 分钟	49150	5.7%	79.4%	43.7%
		15 分钟	21455	9.8%		
	Brij® 58	0 分钟	60936	4.2%	98.4%	95.1%
		15 分钟	57960	3.2%		
	Brij® S20	0 分钟	62097	2.1%	100.3%	87.0%
		15 分钟	54053	3.9%		
	Brij® S10	0 分钟	63885	4.3%	103.2%	78.9%
		15 分钟	50430	2.5%		

图7

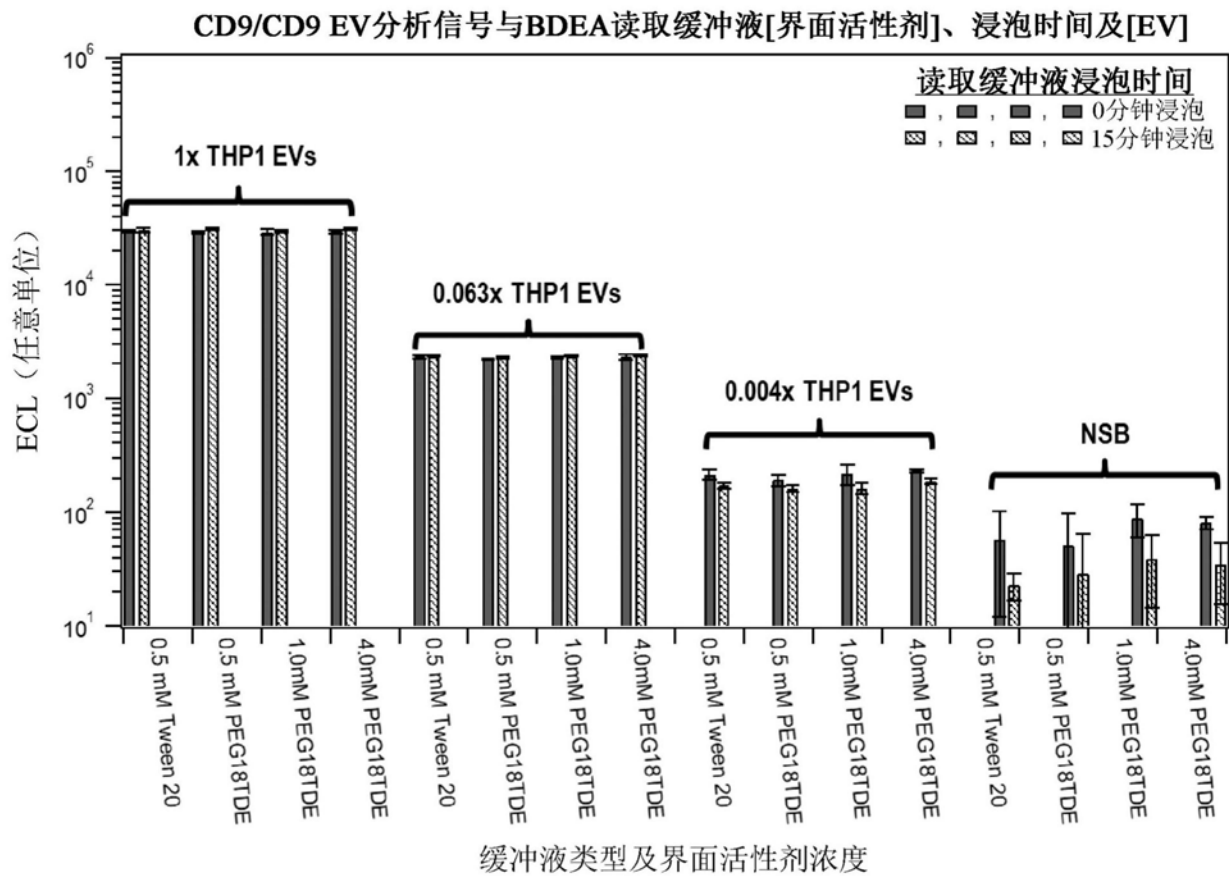


图8

		在39-652 pg/ml cal内之平均ECL损失%					
		MSD T2x			BDEA		
捕捉	侦测	0 分钟	5 分钟	10 分钟	0 分钟	5 分钟	10 分钟
4880-B18-1	4883-C28-2	0%	41%	63%	0%	26%	43%
4883-C28-2	4880-B18-1	0%	20%	32%	0%	2%	2%
4883-C28-2	4882-A54-1	0%	46%	68%	0%	46%	69%
4883-C69-2	4882-A54-1	0%	48%	69%	0%	51%	67%
4883-C69-2	4883-G74-3	0%	17%	33%	0%	8%	15%
4883-C69-2	4883-J01-1	0%	38%	60%	0%	32%	53%

图9A

		在10-156 pg/ml cal内之平均ECL损失%					
		MSD T2x			BDEA		
捕捉	侦测	0 分钟	5 分钟	10 分钟	0 分钟	5 分钟	10 分钟
512004	507602	0%	9%	19%	0%	3%	6%
512004	4390-B35-1	0%	66%	80%	0%	54%	71%
512004	558088	0%	11%	20%	0%	3%	10%
507602	512004	0%	6%	12%	0%	1%	4%
CABT-WN1726	4390-B35-1	0%	71%	83%	0%	59%	73%
CABT-WN1726	507602	0%	8%	19%	0%	-1%	3%
CABT-WN1726	4390-F63-4	0%	51%	72%	0%	34%	54%
130-096-860	4390-B35-1	0%	68%	80%	0%	54%	69%
4365-A26-3	4365-A95-1	0%	33%	54%	0%	21%	39%

图9B

		超过195 pg/ml cal之平均ECL损失%					
		MSD T2x			BDEA		
捕捉	侦测	0 分钟	5 分钟	10 分钟	0 分钟	5 分钟	10 分钟
4945-A82-7	AF1750	0%	43%	61%	0%	11%	28%
4945-A82-7	4942-D39-6	0%	43%	63%	0%	11%	24%

图9C

		在1-4 pg/ml内之平均ECL损失%					
		MSD T2x			BDEA		
捕捉	侦测	0 分钟	5 分钟	10 分钟	0 分钟	5 分钟	10 分钟
4680-G17-2	4681-B70-5	0%	38%	59%	0%	20%	34%

图9D

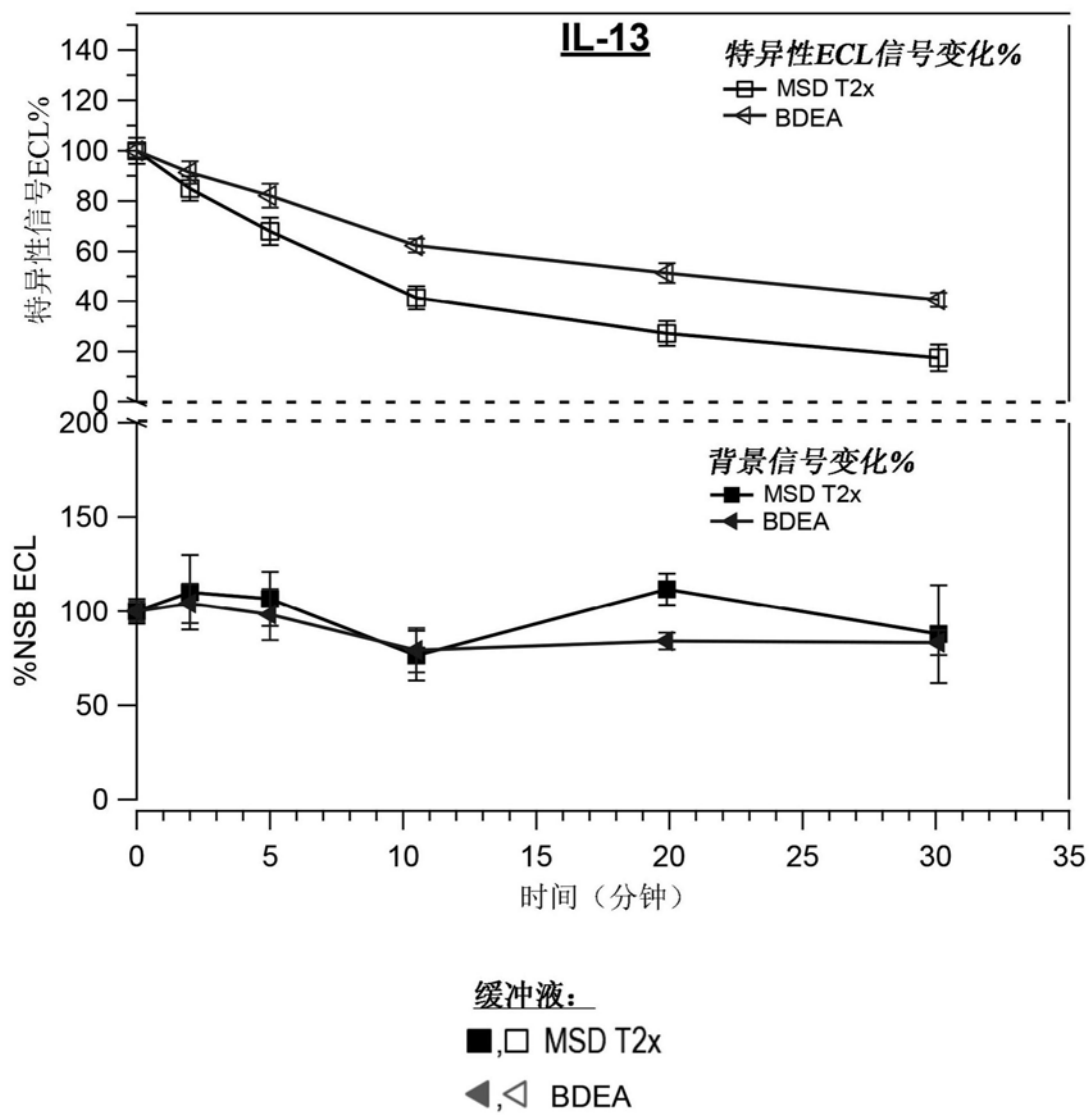


图10A

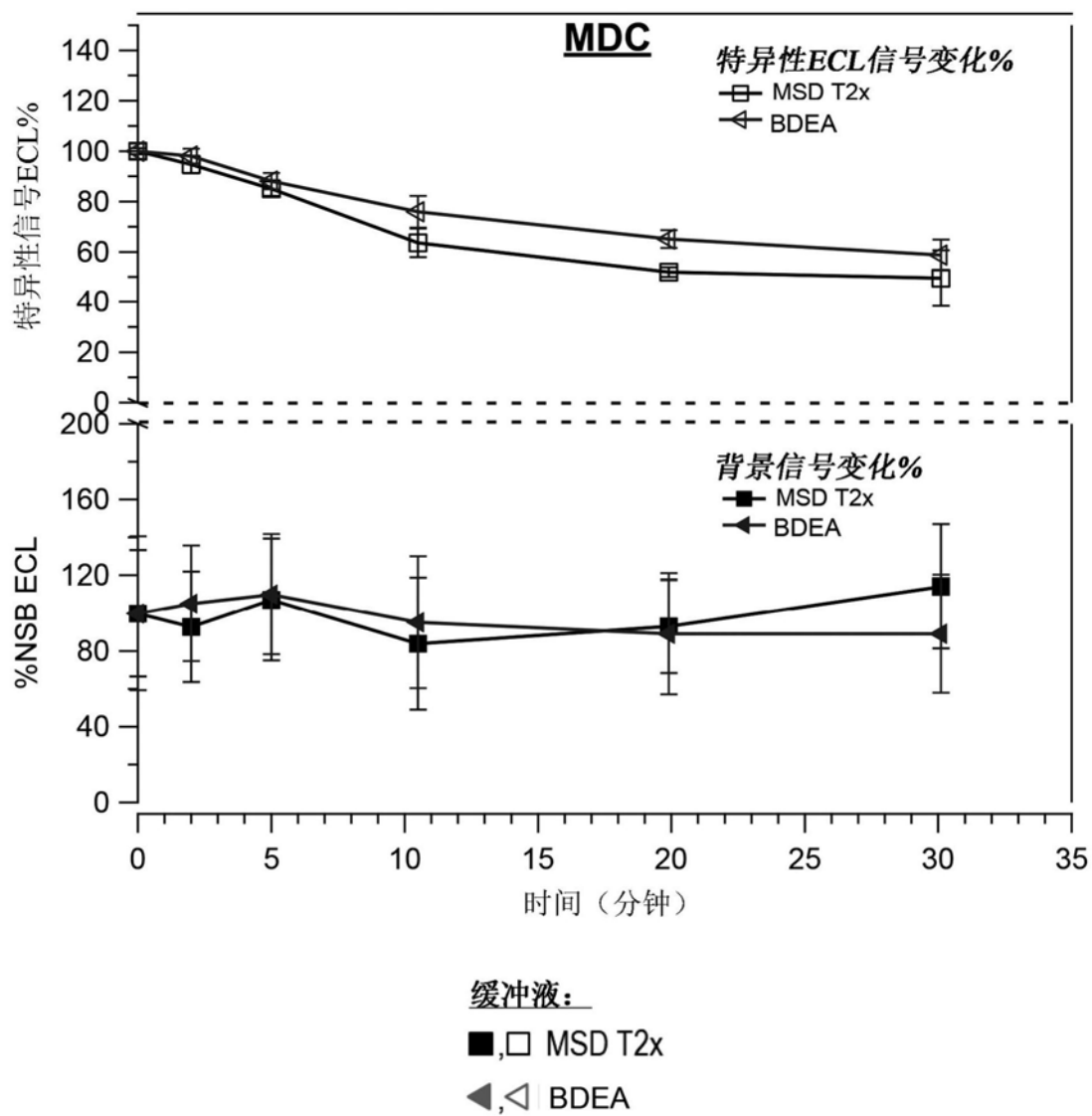
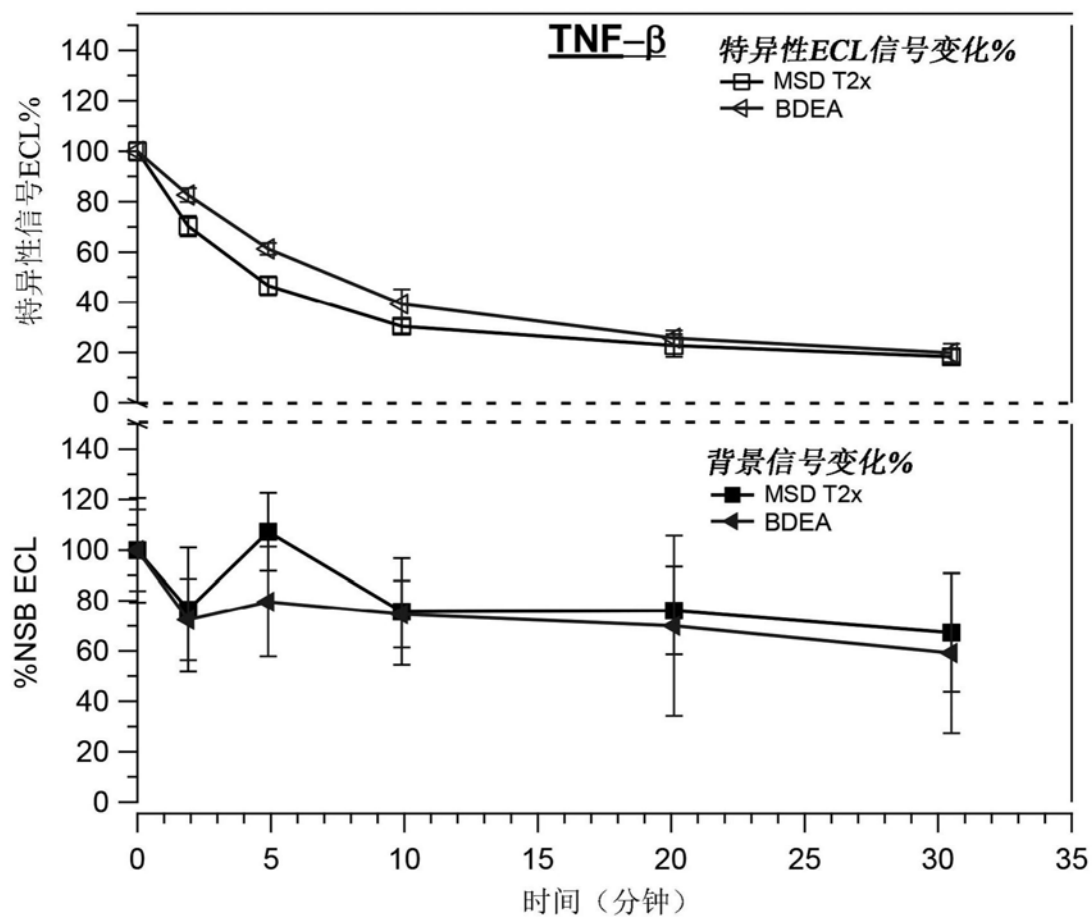


图10B



缓冲液:

■, □ MSD T2x

◀, ▶ BDEA

图10C

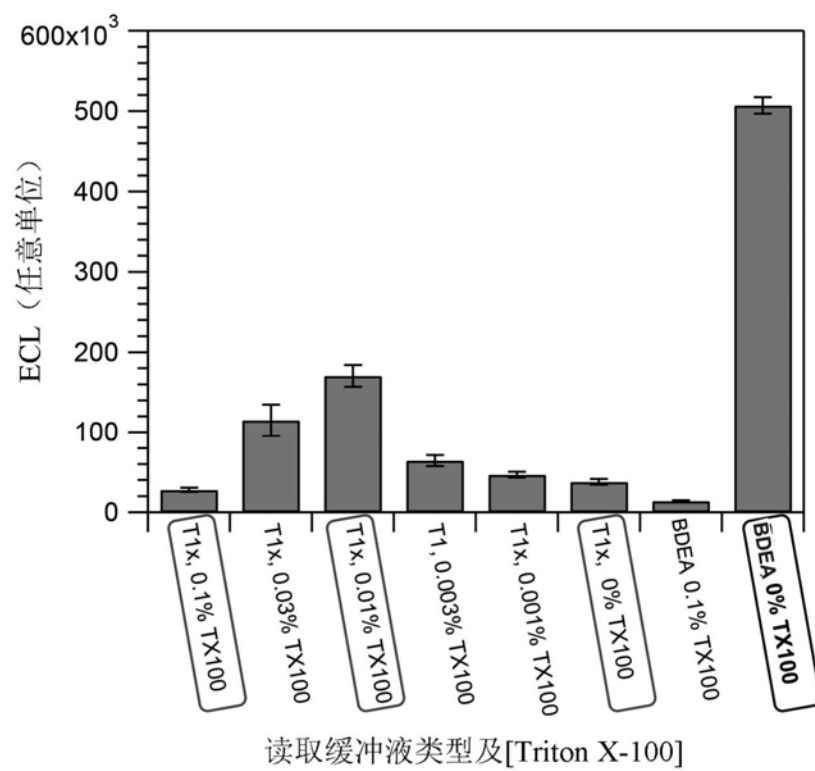


图11A

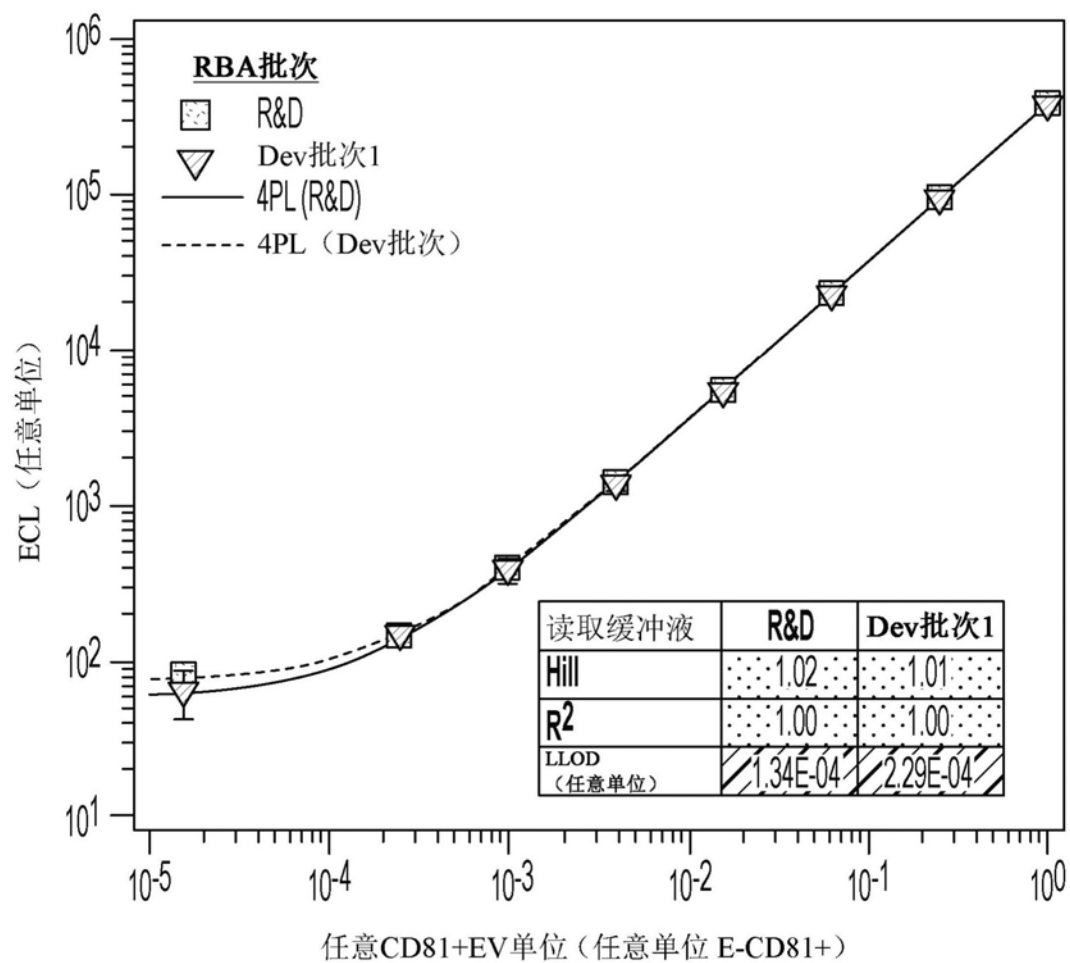


图11B