

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 973 471**

51 Int. Cl.:

G01N 33/533 (2006.01)

G01N 33/543 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.04.2017 PCT/US2017/028176**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.10.2017 WO17184629**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.04.2017 E 17786484 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.01.2024 EP 3446118**

54 Título: **Dispositivo de colorante polimérico multiplexado y métodos para usar la misma referencia cruzada con aplicaciones relacionadas**

30 Prioridad:

22.04.2016 US 201662326640 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

20.06.2024

73 Titular/es:

**BECTON, DICKINSON AND COMPANY (100.0%)
1 Becton Drive, MC 110
Franklin Lakes, NJ 07417-1880, US**

72 Inventor/es:

**SHARKEY, MARYBETH y
MAMO, SHUMEYE**

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 973 471 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Dispositivo de colorante polimérico multiplexado y métodos para usar la misma referencia cruzada con aplicaciones relacionadas

5 De conformidad con el 35 U.S.C. § 119(e), la presente solicitud reivindica el beneficio de prioridad con respecto a la fecha de presentación de la Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos n.º 62/326.640, presentada el 22 de abril de 2016.

10 Introducción

Los ensayos para determinar la presencia y concentración de analitos en un fluido de muestra biológica suelen basarse en la unión específica de un marcador detectable al analito diana. El marcador detectable puede ser un marcador visualizable a simple vista o detectable por espectroscopia, como la fluorescencia o la espectroscopia UV-vis. Como marcador detectable, normalmente se pueden utilizar colorantes fluorescentes, donde el colorante fluorescente incluye un fluorocromo concreto. Un fluorocromo puede tener ciertas propiedades, como su espectro de absorción, su coeficiente de extinción a una longitud de onda conveniente para la excitación, su espectro de emisión y su eficiencia cuántica. La eficiencia cuántica es el número de fotones emitidos por cada fotón absorbido.

20 Las propiedades de un fluorocromo pueden depender del entorno que lo rodea. Por ejemplo, algunos fluorocromos, como la fluoresceína, son sensibles al pH. La fluorescencia también puede extinguirse mediante una interacción con otra molécula donde la energía de emisión del colorante se disipa por una transición no radiante. En algunos casos, la fluorescencia detectable de un fluorocromo puede extinguirse por interacciones entre las moléculas de otro fluorocromo, como un fluorocromo de otro colorante. Este efecto puede observarse como una interacción no deseada entre los colorantes, en donde la fluorescencia de un colorante es significativamente menor de lo que cabría esperar en comparación con la fluorescencia del colorante en ausencia de otros colorantes interferentes. ReaPan 34845 describe tubos de reacción para, p. ej., citometría de flujo con cuatro colorantes diferentes en forma seca en la pared interior del recipiente.

30 **Resumen**

Se proporcionan dispositivos de colorantes poliméricos multiplexados. Los aspectos de los dispositivos incluyen un dispositivo de reactivos que tiene un soporte sólido y primera y segunda composiciones de colorante polimérico secas claramente posicionadas en relación con una superficie del soporte sólido. Además, los aspectos de la invención incluyen además métodos para producir y usar los dispositivos, p. ej., en aplicaciones de detección de analitos, así como en kits que contienen los dispositivos.

Breve descripción de las Figuras

40 La Figura 1 es una ilustración de un dispositivo de reactivos que incluye tres composiciones de colorante polimérico secas claramente posicionadas, según realizaciones de la presente descripción.

La Figura 2 muestra gráficas de los resultados de citometría de flujo de un análisis realizado utilizando un dispositivo de reactivos con tres composiciones de colorante polimérico secas claramente posicionadas, según realizaciones de la presente descripción.

45 La Figura 3 muestra una imagen de un dispositivo de reactivos que incluye tres composiciones de colorante polimérico secas claramente posicionadas y siete colorantes no poliméricos, según realizaciones de la presente descripción.

50 La Figura 4 muestra gráficas de resultados de citometría de flujo de un análisis realizado utilizando un dispositivo de reactivos con tres composiciones de colorante polimérico secas claramente posicionadas y siete colorantes no poliméricos, según realizaciones de la presente descripción.

Descripción detallada

55 Se proporcionan dispositivos de colorantes poliméricos multiplexados. Los aspectos de los dispositivos incluyen un soporte sólido y primera y segunda composiciones de colorante polimérico secas claramente posicionadas en relación con una superficie del soporte sólido. Además, los aspectos de la invención incluyen además métodos para producir y usar los dispositivos, p. ej., en aplicaciones de detección de analitos, así como en kits que contienen los dispositivos.

60 Antes de describir con mayor detalle las realizaciones de la presente descripción, debe entenderse que estas realizaciones no se limitan a las realizaciones particulares descritas, ya que estas pueden variar. También debe entenderse que la terminología utilizada en la presente memoria tiene por objeto describir solamente realizaciones particulares, y no pretende ser limitativa, ya que el alcance de las realizaciones de la presente descripción se limitará únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

65

5 Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, hasta la décima parte de la unidad del límite inferior, a menos que el contexto indique claramente lo contrario, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor indicado o intermedio en ese intervalo indicado, está abarcado dentro de las realizaciones de la presente descripción.

10 Los límites superior e inferior de estos intervalos más pequeños pueden incluirse independientemente en los intervalos más pequeños, y también están abarcados dentro las realizaciones de la presente descripción, sujeto a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo indicado. Cuando el intervalo indicado incluya uno o ambos límites, los intervalos que excluyen cualquiera o ambos de esos límites incluidos también se incluyen en las realizaciones de la presente descripción.

15 A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto en la técnica a la que pertenece esta descripción. Aunque cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en la presente memoria también se puede usar en la práctica o prueba de las realizaciones de la presente descripción, ahora se describen métodos y materiales ilustrativos representativos.

20 La cita de cualquier publicación es para su descripción anterior a la fecha de presentación, y no debe interpretarse como una admisión de que las realizaciones de la presente descripción no tienen derecho a anteceder dicha publicación en virtud de la invención anterior. Además, las fechas de publicación proporcionadas pueden ser diferentes de las fechas de publicación reales, que pueden necesitar ser confirmadas independientemente.

25 Cabe señalar que tal como se usa en la presente memoria y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular “un”, “una” y “el/la” incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Se observa además que las reivindicaciones se pueden redactar para excluir cualquier elemento opcional. Como tal, esta declaración pretende servir como base antecedente para el uso de terminología exclusiva como “únicamente”, “solamente” y similares en relación con la recitación de los elementos de las reivindicaciones, o el uso de una limitación “negativa”.

30 Cualquier método recitado puede llevarse a cabo en el orden de los eventos recitados o en cualquier otro orden que sea lógicamente posible.

35 Como se ha resumido anteriormente, la presente descripción proporciona dispositivos de reactivos que incluyen un soporte sólido y primera y segunda composiciones de colorante polimérico secas claramente posicionadas con respecto a una superficie del soporte sólido. Al describir con más detalle varias realizaciones de la invención, se describen primero con más detalle los presentes dispositivos de reactivos. A continuación, se describen métodos de utilización de los presentes dispositivos de reactivos. Además, también se proporcionan métodos para fabricar los presentes dispositivos de reactivos, así como kits que incluyen los presentes dispositivos de reactivos.

Dispositivos de reactivos

40 Los aspectos de la presente descripción incluyen dispositivos de reactivos. En ciertas realizaciones, los dispositivos de reactivos son útiles en ensayos, por ejemplo, ensayos de una muestra líquida, como una muestra biológica, p. ej., para detectar la presencia de uno o más analitos en la muestra. Los dispositivos de reactivos según ciertas realizaciones de la presente descripción incluyen un soporte sólido y primera y segunda composiciones de colorante polimérico secas claramente posicionadas en relación con una superficie del soporte sólido.

45 El soporte sólido incluido en las realizaciones del dispositivo de reactivos puede ser cualquier soporte sólido conveniente que sea compatible con la muestra líquida y/o reactivos o analitos en contacto con el dispositivo de reactivos. Por ejemplo, el soporte sólido puede ser un soporte sólido compatible con líquidos para dispositivos de reactivos configurados para contener una muestra líquida. En algunos casos, la muestra líquida puede ser una muestra líquida acuosa, y en estos casos, el soporte sólido puede ser compatible con muestras acuosas. Por “compatible” se entiende que el soporte sólido es sustancialmente inerte (p. ej., no reacciona significativamente con) el líquido y/o los reactivos o analitos en contacto con el soporte sólido.

50 El soporte sólido puede estar configurado como un recipiente, en donde el recipiente está configurado para contener un cierto volumen de un fluido (p. ej., gas o líquido). En determinadas realizaciones, el soporte sólido está configurado como un recipiente para líquidos. Por ejemplo, el recipiente para líquidos puede estar configurado para contener un volumen de un líquido. El tamaño del recipiente para líquidos puede depender del volumen de líquido que se vaya a contener en él. Por ejemplo, el recipiente para líquidos puede estar configurado para contener un volumen (p. ej., un volumen de líquido) en el intervalo de 0,1 ml a 1000 ml, tal como de 0,1 ml a 900 ml, o de 0,1 ml a 800 ml, o de 0,1 ml a 700 ml, o de 0,1 ml a 600 ml, o de 0,1 ml a 500 ml, o de 0,1 ml a 400 ml, o de 0,1 ml a 300 ml, o de 0,1 ml a 200 ml, o de 0,1 ml a 100 ml, o de 0,1 ml a 50 ml, o de 0,1 ml a 25 ml, o de 0,1 ml a 10 ml, o de 0,1 ml a 5 ml, o de 0,1 ml a 1 ml, o de 0,1 ml a 0,5 ml. En ciertos casos, el recipiente para líquidos está configurado para contener un volumen (p. ej., un volumen de un líquido) en el intervalo de 0,1 ml a 200 ml.

65 La forma del soporte sólido también puede variar y puede depender del uso del dispositivo de reactivos. Por ejemplo, como se describe en la presente memoria, el dispositivo de reactivos puede utilizarse en un ensayo, como el ensayo de una

muestra líquida (p. ej., una muestra biológica). En estos casos, el soporte sólido puede configurarse con una forma compatible con el ensayo y/o el método u otros dispositivos utilizados para realizar el ensayo. Por ejemplo, el soporte sólido puede configurarse con la forma de un equipo de laboratorio típico utilizado para realizar el ensayo o con una forma que sea compatible con otros dispositivos utilizados para realizar el ensayo. Como se ha descrito anteriormente, el soporte sólido puede configurarse como un recipiente para líquidos. En estas realizaciones, el recipiente para líquidos puede ser un vial o un tubo de ensayo. En algunos casos, el recipiente para líquidos es un vial. En algunos casos, el recipiente para líquidos es un tubo de ensayo. Como se ha descrito anteriormente, el recipiente para líquidos puede estar configurado para contener un volumen (p. ej., un volumen de un líquido). En las realizaciones en donde el recipiente para líquidos es un vial o un tubo de ensayo, el recipiente para líquidos puede estar configurado para contener un volumen (p. ej., un volumen de líquido) en el intervalo de 0,1 ml a 1000 ml, tal como de 0,5 ml a 900 ml, o de 0,5 ml a 800 ml, o de 0,5 ml a 700 ml, o de 0,5 ml a 600 ml, o de 0,5 ml a 500 ml, o de 0,5 ml a 400 ml, o de 0,5 ml a 300 ml, o de 0,5 ml a 200 ml, o de 0,5 ml a 100 ml, o de 0,5 ml a 50 ml, o de 0,5 ml a 25 ml, o de 0,5 ml a 10 ml, o de 0,5 ml a 5 ml, o de 1 ml a 5 ml. En ciertos casos, el vial o tubo de ensayo está configurado para contener un volumen (p. ej., un volumen de un líquido) en el intervalo de 0,5 ml a 5 ml.

En otras realizaciones, el soporte sólido está configurado como una placa multipocillo. En estos casos, el soporte sólido puede incluir una pluralidad de recipientes para líquidos (p. ej., pocillos), tal como 2 o más, o 10 o más, o 50 o más, o 75 o más, o 100 o más, o 300 o más, o 500 o más, o 750 o más, o 1000 o más, o 1500 o más, o 2000 o más recipientes para líquidos (p. ej., pocillos). Algunos ejemplos de soportes sólidos configurados como placas multipocillo pueden incluir, por ejemplo, 6, 24, 96, 384 o 1536 recipientes para líquidos (p. ej., pocillos). En las realizaciones en donde el recipiente para líquidos es un pocillo de una placa multipocillo, un pocillo individual puede estar configurado para contener un volumen (p. ej., un volumen de líquido) en el intervalo de 0,1 ml a 1000 ml, tal como de 0,1 ml a 900 ml, o de 0,1 ml a 800 ml, o de 0,1 ml a 700 ml, o de 0,1 ml a 600 ml, o de 0,1 ml a 500 ml, o de 0,1 ml a 400 ml, o de 0,1 ml a 300 ml, o de 0,1 ml a 200 ml, o de 0,1 ml a 100 ml, o de 0,1 ml a 50 ml, o de 0,1 ml a 25 ml, o de 0,1 ml a 10 ml, o de 0,1 ml a 5 ml, o de 0,1 ml a 1 ml, o de 0,1 ml a 0,5 ml. En ciertos casos, el vial o tubo de ensayo está configurado para contener un volumen (p. ej., un volumen de un líquido) en el intervalo de 0,1 ml a 25 ml.

Como se ha descrito anteriormente, las realizaciones del soporte sólido del dispositivo de reactivos pueden ser compatibles con la muestra líquida y/o reactivos o analitos en contacto con el dispositivo de reactivos. Algunos ejemplos de materiales del soporte sólido adecuados para los dispositivos de reactivos incluyen, entre otros, el vidrio y el plástico. Por ejemplo, el soporte sólido puede estar compuesto de vidrio, tal como, pero sin limitación, vidrio silicatado, vidrio borosilicatado, vidrio de borosilicato de sodio (p. ej., PYREX™), vidrio de cuarzo fundido, vidrio de sílice fundida, y similares. Otros ejemplos de materiales de soporte sólido adecuados para los dispositivos de reactivos incluyen plásticos, tales como, pero sin limitación, polipropileno, polimetilpenteno, politetrafluoroetileno (PTFE), perfluoroéteres (PFE), etileno propileno fluorado (FEP), perfluoroalcoxi alcanos (PFA), tereftalato de polietileno (PET), polietileno (PE), polieteretercetona (PEEK), y similares.

En algunas realizaciones, como se ha descrito anteriormente, el soporte sólido está configurado como un recipiente, en donde el recipiente está configurado para contener un cierto volumen de un fluido (p. ej., gas o líquido). En algunos casos, un soporte sólido se configura como un recipiente (p. ej., un recipiente para líquidos). En algunas realizaciones en donde el soporte sólido está configurado como un recipiente para líquidos, el recipiente para líquidos puede estar sellado. Es decir, el recipiente para líquidos puede incluir un cierre que impide sustancialmente que el contenido del recipiente para líquidos (p. ej., el líquido dentro del recipiente para líquidos) salga del recipiente para líquidos. El cierre del recipiente para líquidos también puede impedir sustancialmente que otras sustancias entren en el recipiente para líquidos. Por ejemplo, el cierre puede ser un cierre hermético que impida sustancialmente que los líquidos entren o salgan del recipiente, o puede ser un cierre hermético que impida sustancialmente que los gases entren o salgan del recipiente. En algunos casos, cierre es desprendible o rompible, de manera que el contenido del recipiente para líquidos pueda quedar expuesto al entorno cuando se desee, p. ej., si se desea extraer una parte del contenido del recipiente para líquidos. En algunos casos, el cierre está hecho de un material elástico para proporcionar una barrera (p. ej., un cierre estanco y/o hermético) para retener una muestra en el recipiente. Los tipos particulares de cierres incluyen, entre otros, películas, como las de polímero, tapas, etc., en función del tipo de recipiente. Los materiales adecuados para el cierre incluyen, por ejemplo, cierres de caucho o polímeros, tal como, pero sin limitación, goma de silicona, caucho natural, goma de estireno butadieno, copolímeros de etileno-propileno, policloropreno, poliacrilato, polibutadieno, poliuretano, estireno butadieno y similares, y combinaciones de los mismos. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el cierre es un septo perforable por una aguja, jeringa o cánula. El cierre también puede proporcionar un acceso cómodo a la muestra contenida en el recipiente, así como una barrera protectora que recubre la abertura del recipiente. En algunos casos, el cierre es un cierre desprendible, como un tapón roscado o a presión u otro elemento de cierre adecuado que pueda aplicarse a la abertura del recipiente. Por ejemplo, puede enroscarse un tapón roscado sobre la abertura antes o después de añadir una muestra al recipiente.

Como se ha descrito anteriormente, el soporte sólido puede estar configurado como un recipiente, en donde el recipiente está configurado para contener un cierto volumen de un fluido (p. ej., gas o líquido). En algunos casos, un soporte sólido que está configurado como un recipiente (p. ej., un recipiente para líquidos) tiene una superficie interior y una superficie exterior. En estas realizaciones, la superficie interior del soporte sólido (p. ej., el recipiente) es la superficie del soporte sólido (p. ej., el recipiente) orientada hacia el interior del soporte sólido (p. ej., el recipiente). La superficie interior puede estar en contacto con el contenido del recipiente. Como tal, el soporte sólido puede incluir una superficie interior del recipiente, tal como una superficie interior de un recipiente para líquidos. La superficie exterior del soporte sólido (p. ej., el recipiente) es la superficie del soporte sólido (p. ej., el recipiente) que da al exterior del interior del soporte sólido (p. ej.,

el recipiente). La superficie exterior no entra en contacto con el contenido del recipiente. Como tal, el soporte sólido puede incluir una superficie exterior del recipiente, tal como una superficie exterior de un recipiente para líquidos.

En ciertas realizaciones, el dispositivo de reactivos incluye una composición de colorante colocada sobre una superficie del soporte sólido. El dispositivo de reactivos puede incluir una o más composiciones de colorante en la superficie del soporte sólido, tal como 2 o más composiciones de colorante, o 3 o más, o 4 o más, o 5 o más, o 6 o más, o 7 o más, u 8 o más, o 9 o más, o 10 o más, u 11 o más, o 12 o más, o 13 o más, o 14 o más, o 15 o más, o 16 o más, o 17 o más, o 18 o más, o 19 o más, o 20 o más, o 25 o más, o 30 o más, o 35 o más, o 40 o más, o 45 o más, o 50 o más composiciones de colorante en la superficie del soporte sólido. En algunas realizaciones, el dispositivo de reactivos incluye de 2 a 50 composiciones de colorante en la superficie del soporte sólido, tal como de 2 a 40, o de 2 a 30 o de 2 a 20 o de 2 a 15, o de 2 a 10, o de 2 a 7, o de 2 a 5 composiciones de colorante en la superficie del soporte sólido. Por ejemplo, el dispositivo de reactivos puede incluir 2, o 3, o 4, o 5, o 6, o 7, u 8, o 9, o 10, u 11, o 12, o 13, o 14, o 15, o 16, o 17, o 18, o 19, o 20 composiciones de colorante en la superficie del soporte sólido. En ciertos casos, el dispositivo de reactivos incluye 2 composiciones de colorante en la superficie del soporte sólido. En ciertos casos, el dispositivo de reactivos incluye 5 composiciones de colorante en la superficie del soporte sólido. En ciertos casos, el dispositivo de reactivos incluye 7 composiciones de colorante en la superficie del soporte sólido. En ciertos casos, el dispositivo de reactivos incluye 10 composiciones de colorante en la superficie del soporte sólido.

Como se ha descrito anteriormente, el dispositivo de reactivos puede incluir dos o más composiciones de colorante colocadas en relación con una superficie del soporte sólido. Las composiciones de colorante pueden situarse en la superficie del soporte sólido en distintas posiciones. Por ejemplo, la primera y segunda composiciones de colorante pueden colocarse claramente sobre la superficie del soporte sólido. Por “posición clara” o “claramente posicionada” se entiende que una composición de colorante está dispuesta en una posición distinta de la posición de otra composición de colorante. La posición de una composición de colorante puede referirse a la ubicación de la composición de colorante en la superficie del soporte sólido, y/o puede referirse a la posición de la composición de colorante en relación con la superficie del soporte sólido. En algunos casos, una composición de colorante ocupa un volumen de espacio definido. Por ejemplo, una composición de colorante puede ocupar un volumen de espacio en una superficie del soporte sólido. Una composición de colorante claramente posicionada puede ocupar un volumen de espacio que no coincide ni se solapa significativamente con un volumen de espacio ocupado por otra composición de colorante, donde en algunos casos no coincide ni se solapa en absoluto con un volumen de espacio ocupado por otra composición de colorante. Las realizaciones donde las composiciones de colorante se colocan en posiciones distintas pueden minimizar las interacciones entre colorantes entre cada una de las composiciones de colorante.

Dicho de otro modo, una composición de colorante claramente posicionada no se mezcla significativamente con otra composición de colorante polimérico, p. ej., prácticamente ninguna porción de la composición de colorante claramente posicionada se mezcla con una porción de otra composición de colorante polimérico. En algunos casos, una composición de colorante claramente posicionada no se mezcla con otra composición de colorante polimérico, por ejemplo, ninguna porción de la composición de colorante claramente posicionada se mezcla con una porción de otra composición de colorante polimérico. En ciertas realizaciones, una composición de colorante claramente posicionada incluye un único colorante. Por ejemplo, una composición de colorante claramente posicionada puede estar compuesta sustancialmente por un único colorante y no incluir otro colorante en una cantidad significativa. Una composición de colorante claramente posicionada puede incluir un gran exceso de un colorante con respecto a cualquier otro colorante que pueda haber en la composición de colorante, tal como, por ejemplo, un 75 % en peso o más, tal como un 80 % en peso o más, o un 85 % en peso o más, o un 90 % en peso o más, o un 95 % en peso o más, o un 97 % en peso o más, o un 99 % en peso o más, o un 100 % en peso de un colorante con respecto a cualquier otro colorante que pueda haber en la composición de colorante.

En algunos casos, las composiciones de colorante están separadas entre sí en lugares distintos de la superficie del soporte sólido. Una composición de colorante espaciada de otra composición de colorante puede estar físicamente separada de composiciones de colorante adyacentes. Por ejemplo, las composiciones de colorante claramente posicionadas pueden colocarse en la superficie del soporte sólido en ubicaciones separadas de forma que haya una distancia determinada entre un borde de la composición de colorante y un borde de una composición de colorante adyacente. En algunas realizaciones, la distancia entre las ubicaciones separadas de las composiciones de colorante en la superficie del soporte sólido es de 0,1 mm o más, tal como 0,5 mm o más, o 1 mm o más, o 2 mm o más, o 3 mm o más, o 4 mm o más, o 5 mm o más, o 6 mm o más, o 7 mm o más, u 8 mm o más, o 9 mm o más, o 10 mm o más, o 12 mm o más, o 14 mm o más, o 16 mm o más, o 18 mm o más, o 20 mm o más, o 25 mm o más, o 30 mm o más, o 35 mm o más, o 40 mm o más, o 50 mm o más, o 60 mm o más, o 70 mm o más, u 80 mm o más, o 90 mm o más, o 100 mm o más, o 110 mm o más, o 120 mm o más, o 130 mm o más, o 140 mm o más, o 150 mm o más, o 160 mm o más, o 170 mm, o más, o 180 mm o más, o 190 mm o más, o 200 mm o más. Por ejemplo, la distancia entre las distintas ubicaciones de las composiciones de colorante en la superficie del soporte sólido estar en el intervalo de 0,1 mm a 200 mm, tal como, por ejemplo de 0,1 mm a 190 mm, o de 0,1 mm a 180 mm, o de 0,1 mm a 170 mm, o de 0,1 mm a 160 mm, o de 0,1 mm a 150 mm, o de 0,1 mm a 140 mm, o de 0,1 mm a 130 mm, o de 0,1 mm a 120 mm, o de 0,1 mm a 110 mm, o de 0,1 mm a 100 mm, o de 0,1 mm a 90 mm, o de 0,1 mm a 80 mm, o de 0,1 mm a 70 mm, o de 0,1 mm a 60 mm, o de 0,1 mm a 50 mm, o de 0,1 mm a 40 mm, o de 0,1 mm a 30 mm, o de 0,1 mm a 20 mm, o de 0,1 mm a 10 mm, o de 0,1 mm a 9 mm, o de 0,1 mm a 8 mm, o de 0,1 mm a 7 mm, o de 0,1 mm a 6 mm, o de 0,1 mm a 5 mm, o de 0,1 mm a 4 mm, o de 0,1 mm a 3 mm, o de 0,1 mm a 2 mm, o de 0,1 mm a 1 mm, o de 0,1 mm a 0,5 mm. En ciertos casos, la distancia entre las ubicaciones separadas de las composiciones de colorante en la superficie del soporte sólido

se encuentra en el intervalo de 0,1 mm a 200 mm. En algunos casos, la distancia entre las ubicaciones separadas de las composiciones de colorante en la superficie del soporte sólido se encuentra en el intervalo de 0,1 mm a 10 mm.

En ciertas realizaciones, las composiciones de colorante claramente posicionadas se colocan adyacentes entre sí en la superficie del soporte sólido, pero no están espaciadas entre sí. En estos casos, un borde de una composición de colorante puede entrar en contacto con el borde de una composición de colorante adyacente. Por ejemplo, el volumen de espacio ocupado por una composición de colorante puede entrar en contacto, pero no solaparse significativamente con un volumen de espacio ocupado por otra composición de colorante (adyacente). En estas realizaciones, las composiciones de colorante adyacentes pueden entrar en contacto entre sí, pero no se mezclan significativamente entre sí, p. ej., sustancialmente ninguna porción de la composición de colorante claramente posicionada se mezcla con una porción de otra composición de colorante (adyacente).

En la misma superficie del soporte sólido están presentes composiciones de colorante posicionadas claramente, pero dispuestas en distintas posiciones sobre la superficie del soporte sólido o en relación con ella. Por ejemplo, como se ha descrito anteriormente, el soporte sólido puede configurarse como un recipiente para líquidos y, como tal, puede incluir una superficie interior y una superficie exterior. En ciertos casos, las composiciones de colorante se colocan en una superficie (p. ej., una superficie interior) del recipiente para líquidos. En algunos casos, las composiciones de colorante se colocan claramente en una superficie interior del recipiente para líquidos.

Algunos ejemplos de composiciones de colorante claramente posicionadas incluyen realizaciones donde una composición de colorante está dispuesta sobre una superficie de un soporte sólido en una ubicación determinada y otra composición de colorante también está dispuesta sobre la superficie del soporte sólido en una ubicación diferente. Como tal, las composiciones de colorante claramente posicionadas pueden colocarse en ubicaciones separadas en la superficie del soporte sólido. Por ejemplo, las realizaciones de los dispositivos de reactivos pueden incluir la primera y segunda composiciones de colorante, donde la primera composición de colorante se coloca en un lugar determinado de la superficie del soporte sólido y la segunda composición de colorante se coloca en la superficie del soporte sólido en un lugar diferente al de la primera composición de colorante. Como se ha descrito anteriormente, la primera y segunda composiciones de colorante pueden estar separadas entre sí de manera que haya una distancia entre las ubicaciones separadas de la primera y segunda composiciones de colorante en la superficie del soporte sólido. La distancia entre la primera y segunda composiciones de colorante puede ser según los intervalos y valores descritos anteriormente.

Pueden proporcionarse composiciones de colorante adicionales en la superficie del soporte sólido. Por ejemplo, el dispositivo de reactivos puede incluir una tercera composición de colorante claramente posicionada en la superficie del soporte sólido. La tercera composición de colorante puede estar claramente posicionada con respecto a la primera composición de colorante, y también puede estar claramente posicionada con respecto a la segunda composición de colorante. Como tal, cada una de las composiciones de colorante (p. ej., las composiciones de colorante primera, segunda y tercera) puede estar claramente posicionada una con respecto a la otra en la superficie del soporte sólido, como se describe en la presente memoria. En la superficie del soporte sólido pueden colocarse composiciones de colorante adicionales, tal como 4 o más composiciones de colorante, o 5 o más, 7 o más, 10 o más, etc., tal como se ha descrito anteriormente.

Otros ejemplos de composiciones de colorante claramente posicionadas incluyen realizaciones donde una composición de colorante está dispuesta sobre una superficie de un soporte sólido en un lugar determinado y otra composición de colorante está situada en el mismo lugar. De este modo, las composiciones de colorante claramente posicionadas pueden colocarse en el mismo lugar de la superficie del soporte sólido. Las composiciones de colorante pueden estar ubicadas en el mismo lugar y, sin embargo, estar claramente posicionadas. Por ejemplo, las composiciones de colorante pueden estar separadas entre sí por un material no colorante. En algunos casos, el material no colorante se interpone entre las composiciones de colorante claramente posicionadas. El material no colorante puede cubrir sustancialmente una superficie de una composición de colorante de manera que una composición de colorante adyacente quede separada de la composición de colorante. Por ejemplo, una composición de colorante puede tener un material no colorante dispuesto sobre la superficie de la composición de colorante, y otra composición de colorante puede estar dispuesta sobre una superficie del material no colorante. En estos casos, la composición de colorante puede estar físicamente separada de otras composiciones de colorante por el material no colorante. En algunos casos, las composiciones de colorante claramente posicionadas pueden proporcionarse como capas alternas de una composición de colorante y un material no colorante sobre una superficie del soporte sólido. Como tal, en ciertas realizaciones, dos o más composiciones de colorante están claramente posicionadas una respecto a la otra y también están colocadas en el mismo lugar de la superficie del soporte sólido.

En ciertas realizaciones, el material no colorante es un material compatible con otros componentes del ensayo (p. ej., reactivos, tampones, analitos, etc.) que pueden estar presentes en el dispositivo de reactivos durante su uso. El material no colorante puede ser sustancialmente inerte con respecto a los demás componentes del ensayo (p. ej., reactivos, tampones, analitos, etc.) que pueden estar presentes en el dispositivo de reactivos durante su uso, de forma que no se produzca una reacción significativa entre el material no colorante y los demás componentes del ensayo. Algunos ejemplos de materiales no colorantes incluyen, pero sin limitación, estabilizantes, tampones, materiales inertes solubles (p. ej., materiales inertes solubles acuosos), y similares. Los estabilizantes de interés incluyen, pero sin limitación: azúcares y polialcoholes. Los azúcares y polialcoholes adecuados para su uso en composiciones de colorante liofilizadas incluyen azúcares que son compatibles con los demás reactivos, tampones,

colorantes y componentes de la muestra que se utilizan. Algunos ejemplos de azúcares adecuados incluyen, pero sin limitación, sacarosa, maltosa, trehalosa, 2-hidroxipropil-beta-ciclodextrina (P- HPCD), lactosa, glucosa, fructosa, galactosa, glucosamina, y similares, y combinaciones de los mismos. En algunos casos, el azúcar es un disacárido. Por ejemplo, el disacárido puede ser sacarosa. Algunos ejemplos de polialcoholes adecuados incluyen, pero sin limitación, manitol, glicerol, eritritol, treitol, xilitol, sorbitol y similares, y combinaciones de los mismos. Los materiales no colorantes pueden incluir, por ejemplo, albúmina de suero bovino (BSA), azida sódica, glicerol, fluoruro de fenilmetanosulfonilo (PMSF), ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), tampón citrato, solución salina tamponada con fosfato (PBS), cloruro sódico, paraformaldehído, y similares, y combinaciones de los mismos.

Por ejemplo, las realizaciones de los dispositivos de reactivos pueden incluir la primera y segunda composiciones de colorante, donde la primera composición de colorante se coloca en un lugar determinado de la superficie del soporte sólido y la segunda composición de colorante está colocada en el mismo lugar que la primera composición de colorante. Como se ha descrito anteriormente, la primera y segunda composiciones de colorante pueden estar separadas entre sí de manera que haya una distancia entre la primera y segunda composiciones de colorante. Por ejemplo, la primera y segunda composiciones de colorante pueden estar separadas entre sí por un material no colorante, como se ha descrito anteriormente. La distancia entre la primera y segunda composiciones de colorante puede ser según los intervalos y valores descritos anteriormente. Por ejemplo, el material no colorante puede interponerse entre la primera y segunda composiciones de colorante. En estas realizaciones, la primera composición de colorante puede colocarse sobre una superficie del soporte sólido, el material no colorante puede disponerse como una capa sobre una superficie de la primera composición de colorante, y la segunda composición de colorante puede disponerse sobre la superficie de la composición no colorante. En estos casos, la primera composición de colorante puede estar físicamente separada de las segundas composiciones de colorante por el material no colorante. Como tal, en ciertas realizaciones, la primera y segunda composiciones de colorante están claramente posicionadas una respecto a la otra y también están colocadas en el mismo lugar de la superficie del soporte sólido. Por ejemplo, la capa de material no colorante sobre la superficie de la primera composición de colorante puede cubrir sustancialmente toda la superficie de la primera composición de colorante. En estos casos, una segunda composición de colorante dispuesta sobre la superficie de la composición no colorante puede no entrar en contacto significativo con la primera composición de colorante. En algunos casos, el material no colorante es una capa sustancialmente contigua de material no colorante sobre la superficie de la primera composición de colorante. Por ejemplo, el material no colorante puede cubrir una parte sustancial de la superficie de la primera composición de colorante, tal como el 75 % o más de la superficie de la primera composición de colorante, o el 80 % o más, o el 85 % o más, o el 90 % o más, o el 95 % o más, o el 97 % o más, o el 99 % o más de la superficie de la primera composición de colorante. Las realizaciones donde la superficie de la primera composición de colorante está sustancialmente cubierta por el material no colorante pueden minimizar las interacciones entre colorantes entre la primera y segunda composiciones de colorante.

En determinadas realizaciones, el material no colorante tiene un grosor en el intervalo de 0,01 mm a 5 mm, por ejemplo de 0,05 mm a 5 mm, o de 0,1 mm a 5 mm, o de 0,1 mm a 4 mm, o de 0,1 mm a 3 mm, o de 0,1 mm a 2 mm, o de 0,1 mm a 1 mm, o de 0,1 mm a 0,9 mm, o de 0,1 mm a 0,8 mm, o de 0,1 mm a 0,7 mm, o de 0,1 mm a 0,6 mm, o de 0,1 mm a 0,5 mm. En ciertos casos, el material no colorante tiene un grosor de 0,1 mm a 1 mm. En algunos casos, el material no colorante tiene un grosor de 0,1 mm a 0,05 mm.

También pueden proporcionarse composiciones de colorante adicionales. Por ejemplo, el dispositivo de reactivos puede incluir una tercera composición de colorante claramente situada con respecto a la primera y segunda composiciones de colorante. Como tal, la tercera composición de colorante puede estar claramente posicionada en relación con la primera composición de colorante, y también puede estar claramente posicionada en relación con la segunda composición de colorante. Por tanto, cada una de las composiciones de colorante (p. ej., las composiciones de colorante primera, segunda y tercera) puede estar claramente posicionada una con respecto a la otra, como se describe en la presente memoria. En algunos casos, cada una de las composiciones de colorante puede estar separada de la otra por un material no colorante. Por ejemplo, cada una de las composiciones de colorante puede estar separada de la otra por un material no colorante. En algunos casos, el material no colorante se interpone entre cada una de las composiciones de colorante claramente posicionadas. En ciertos casos, cada una de las composiciones de colorante claramente posicionadas se proporciona como una capa con una capa de material no colorante entre cada una de las composiciones de colorante claramente posicionadas. Pueden colocarse capas adicionales de composiciones de colorante, tal como 4 o más composiciones de colorante, o 5 o más, 7 o más, 10 o más, etc., tal como se ha descrito anteriormente. Como tal, una pluralidad de composiciones de colorante puede estar claramente posicionadas unas respecto a otras y también colocadas en el mismo lugar de la superficie del soporte sólido.

En ciertas realizaciones, las composiciones de colorante en la superficie del soporte sólido son composiciones de colorante secas. Una composición de colorante seca es una composición de colorante que incluye una baja cantidad de disolvente. Por ejemplo, las composiciones de colorante secas pueden incluir una cantidad baja de un líquido, tal como agua. En algunos casos, una composición de colorante seca no incluye prácticamente ningún disolvente. Por ejemplo, las composiciones de colorante secas pueden no contener prácticamente ningún líquido, tal como agua. En ciertas realizaciones, una composición de colorante seca incluye un 25 % en peso o menos de disolvente, tal como un 20 % en peso o menos, o un 15 % en peso o menos, o un 10 % en peso o menos, o un 5 % en peso o menos, o un 3 % en peso o menos, o un 1 % en peso o menos, o un 0,5 % en peso o menos de disolvente. En algunos casos, una composición de colorante seca no es un fluido. En algunos casos, una composición de colorante

seca es sustancialmente un sólido. Por ejemplo, una composición de colorante seca puede tener una viscosidad elevada, tal como una viscosidad de 10.000 cP o más, o 25.000 cP o más, o 50.000 cP o más, o 75.000 cP o más, o 100.000 cP o más, o 150.000 cP o más, o 200.000 cP o más, o 250.000 cP o más en condiciones estándar.

5 En algunos casos, las composiciones de colorante son composiciones de colorante liofilizadas. En ciertos casos, una composición de colorante liofilizada es una composición de colorante donde se ha eliminado el agua de la composición de colorante por sublimación, donde el agua de la composición de colorante experimenta una transición de fase de sólido a gas. Por ejemplo, una composición de colorante liofilizada puede ser una composición de colorante en donde se ha eliminado el agua de la composición congelando la composición de colorante (p. ej., congelando el agua en la composición de colorante) y reduciendo a continuación la presión que rodea la composición de colorante de manera que el agua en la composición de colorante experimenta sublimación. En ciertos casos, una composición de colorante liofilizada incluye agua en una cantidad baja, tal como un 25 % o menos, o un 20 % o menos, o un 15 % o menos, o un 10 % o menos, o un 9 % o menos, o un 8 % o menos, o un 7 % o menos, o un 6 % o menos, o un 5 % o menos, o un 4 % o menos, o un 3 % o menos, o un 2 % o menos, o un 1 % o menos, o un 0,5 % o menos, o un 0,25 % o menos, o un 0,1 % o menos de agua medida por valoración de Karl Fischer (KF). En algunos casos, una composición de colorante liofilizada tiene un 3 % o menos de agua, medida por valoración de Karl Fischer. En algunos casos, una composición de colorante liofilizada tiene un 1 % o menos de agua, medida por valoración de Karl Fischer. En algunos casos, una composición de colorante liofilizada tiene 0,5 % o menos de agua, medida por valoración de Karl Fischer. Las composiciones de colorante liofilizadas pueden incluir aditivos y/o excipientes, como un estabilizante. En algunos casos, la composición de colorante liofilizada incluye un estabilizante, tal como un azúcar o un polialcohol. Los azúcares y polialcoholes adecuados para su uso en composiciones de colorante liofilizadas incluyen azúcares que son compatibles con los demás reactivos, tampones, colorantes y componentes de la muestra que se utilizan. Algunos ejemplos de azúcares adecuados incluyen, pero sin limitación, sacarosa, maltosa, trehalosa, 2-hidroxiopropil-beta-ciclodextrina (P-HPCD), lactosa, glucosa, fructosa, galactosa, glucosamina, y similares, y combinaciones de los mismos. En algunos casos, el azúcar es un disacárido. Por ejemplo, el disacárido puede ser sacarosa. Algunos ejemplos de polialcoholes adecuados incluyen, pero sin limitación, manitol, glicerol, eritritol, treitol, xilitol, sorbitol y similares, y combinaciones de los mismos.

El colorante de la composición de colorante puede utilizarse como marcador detectable. En ciertos casos, el colorante incluye restos o marcadores detectables que son detectables basándose, por ejemplo, en los máximos de emisión de fluorescencia, la polarización de fluorescencia, el tiempo de vida de la fluorescencia, la dispersión de la luz, la masa, la masa molecular o combinaciones de los mismos. En determinadas realizaciones, el marcador detectable es un fluoróforo (es decir, un marcador fluorescente, un colorante fluorescente, etc.). Los fluoróforos de interés pueden incluir, entre otros, colorantes adecuados para su uso en aplicaciones analíticas (p. ej., citometría de flujo, formación de imágenes, etc.).

35 En algunos casos, el fluoróforo (es decir, el colorante) es un colorante polimérico (p. ej., un colorante polimérico fluorescente). Los colorantes poliméricos fluorescentes que se utilizan en los métodos y sistemas descritos son variados. En algunos casos del método, el colorante polimérico incluye un polímero conjugado. Los polímeros conjugados (PC) se caracterizan por una estructura electrónica deslocalizada que incluye una estructura de enlaces insaturados alternos (p. ej., enlaces dobles y/o triples) y enlaces saturados (p. ej., enlaces simples), donde los electrones π pueden moverse de un enlace a otro. Como tal, el armazón conjugado puede conferir una estructura lineal extendida en el colorante polimérico, con ángulos de enlace limitados entre las unidades repetidas del polímero. Por ejemplo, las proteínas y los ácidos nucleicos, aunque también son poliméricos, en algunos casos no forman estructuras de varilla extendida, sino que se pliegan en formas tridimensionales de orden superior. Además, los PC pueden formar amazonas poliméricos de “varilla rígida” y experimentar un ángulo de giro limitado (p. ej., torsión) entre las unidades de repetición de monómero a lo largo de la cadena del armazón polimérico. En algunos casos, el colorante polimérico incluye un PC que tiene una estructura de varilla rígida. Las características estructurales de los colorantes poliméricos pueden influir en las propiedades de fluorescencia de las moléculas.

En los presentes métodos y dispositivos puede utilizarse cualquier colorante polimérico conveniente. En algunos casos, un colorante polimérico es un multicromóforo que tiene una estructura capaz de recoger luz para amplificar la salida fluorescente de un fluoróforo. En algunos casos, el colorante polimérico es capaz de recoger luz y convertirla eficazmente en luz emitida a una longitud de onda más larga. En algunos casos, el colorante polimérico tiene un sistema multicromóforo captador de luz que puede transferir energía eficazmente a especies luminiscentes cercanas (p. ej., un “cromóforo de señalización”). Los mecanismos de transferencia de energía incluyen, por ejemplo, la transferencia de energía de resonancia (p. ej., la transferencia de energía de resonancia de Forster (o fluorescencia), FRET), el intercambio de carga cuántica (transferencia de energía de Dexter), y similares. En algunos casos, estos mecanismos de transferencia de energía tienen un alcance relativamente corto; es decir, la proximidad del sistema multicromóforo de captación de luz al cromóforo de señalización permite una transferencia de energía eficiente. En condiciones de transferencia eficiente de energía, la amplificación de la emisión del cromóforo de señalización se produce cuando el número de cromóforos individuales en el sistema multicromóforo de captación de luz es grande; es decir, la emisión del cromóforo señalizador es más intensa cuando la luz incidente (la “luz de excitación”) tiene una longitud de onda que es absorbida por el sistema multicromóforo captador de luz que cuando el cromóforo señalizador es excitado directamente por la fuente de luz.

El multicromóforo puede ser un polímero conjugado. Los polímeros conjugados (PC) se caracterizan por una estructura electrónica deslocalizada y pueden utilizarse como indicadores ópticos altamente sensibles para dianas químicas y biológicas. Dado que la longitud efectiva de conjugación es sustancialmente menor que la longitud de la cadena polimérica,

el armazón contiene un gran número de segmentos conjugados muy próximos entre sí. Por tanto, los polímeros conjugados son eficaces para la captación de luz y permiten la amplificación óptica mediante la transferencia de energía de Forster.

5 Algunos colorantes poliméricos de interés incluyen, entre otros, los descritos por Gaylord y col. en las publicaciones estadounidenses n.º 20040142344, 20080293164, 20080064042, 20100136702, 20110256549, 20120028828, 20120252986 y 201 30190193; y Gaylord y col., *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, 123 (26), págs. 6417–6418; Feng y col., *Chem. Soc. Rev.*, 2010, 39, 2411–2419; y Traina y col., *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, 133 (32), págs. 12600–12607.

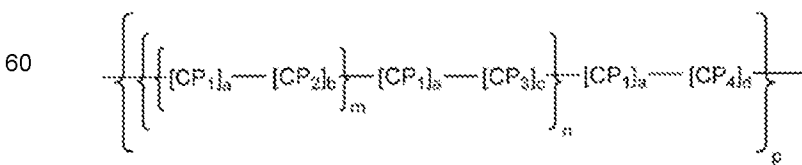
10 En algunas realizaciones, el colorante polimérico incluye un polímero conjugado que incluye una pluralidad de primeras unidades ópticamente activas que forman un sistema conjugado, que tiene una primera longitud de onda de absorción (p. ej., como se describe en la presente memoria) a la que las primeras unidades ópticamente activas absorben la luz para formar un estado excitado. El polímero conjugado (PC) puede ser policatiónico, polianiónico y/o un polímero conjugado de carga neutra.

15 Los PC pueden ser solubles en agua para su uso en muestras biológicas. Puede incluirse cualquier grupo sustituyente conveniente en los colorantes poliméricos para proporcionar una mayor solubilidad en agua, como un grupo sustituyente hidrófilo, p. ej., un polímero hidrófilo, o un grupo sustituyente cargado, p. ej., grupos cargados positiva o negativamente en una solución acuosa, p. ej., en condiciones fisiológicas. En los presentes multicromóforos captadores de luz puede utilizarse cualquier grupo soluble en agua (WSG). El término “grupo soluble en agua” se refiere a un grupo funcional que se disuelve bien en medios acuosos y que confiere una solubilidad en agua mejorada a las moléculas a las que está unido. En algunas realizaciones, un WSG aumenta la solubilidad del multicromóforo en una solución predominantemente acuosa (p. ej., como se describe en la presente memoria), en comparación con un multicromóforo que carece del WSG. Los grupos solubles en agua pueden ser cualquier grupo hidrófilo conveniente que se disuelva bien en medios acuosos. En algunos casos, el grupo hidrófilo soluble en agua está cargado, p. ej., positiva o negativamente. En ciertos casos, el grupo hidrófilo soluble en agua es un grupo hidrófilo neutro. En algunas realizaciones, el WSG es un polímero hidrófilo, p. ej., un polietilenglicol, una celulosa, un quitosano o un derivado de los mismos.

25 En la presente memoria, los términos “óxido de polietileno”, “PEO”, “polietilenglicol” y “PEG” se utilizan indistintamente y se refieren a un polímero que incluye una cadena descrita por la fórmula $-(CH_2-CH_2-O)_n-$, o un derivado del mismo. En algunas realizaciones, “n” es 5000 o menos, tal como 1000 o menos, 500 o menos, 200 o menos, 100 o menos, 50 o menos, 40 o menos, 30 o menos, 20 o menos, 15 o menos, tal como de 5 a 15, o de 10 a 15. Se entiende que el polímero de PEG puede ser de cualquier longitud conveniente y puede incluir una variedad de grupos terminales, entre los que se incluyen, pero sin limitación, grupos terminales alquilo, arilo, hidroxilo, amino, acilo, aciloxi, y amido. Entre los PEG funcionalizados que pueden adaptarse para su uso en los presentes multicromóforos se incluyen los PEG descritos por S. Zalipsky, “Functionalized poly(ethylene glycol) for preparation of biologically relevant conjugates”, *Bioconjugate Chemistry* 1995, 6(2), 150–165. Los grupos solubles en agua de interés incluyen, pero sin limitación, carboxilato, fosfonato, fosfato, sulfonato, sulfato, sulfinato, éster, polietilenglicoles (PEG) y PEG modificados, hidroxilo, amina, amonio, guanidinio, poliamina y sulfonio, polialcoholes, sacáridos de cadena lineal o cíclica, aminas y poliaminas primarias, secundarias, terciarias o cuaternarias, grupos fosfonato, grupos fosfinato, grupos ascorbato, glicoles, incluidos poliéteres, $-COOM'$, $-SO_3M'$, $-PO_3M'$, $-NR_3^+$, Y', $(CH_2CH_2O)_pR$ y mezclas de los mismos, donde Y' puede ser cualquier halógeno, sulfato, sulfonato o anión que contenga oxígeno, p puede ser de 1 a 500, cada R puede ser independientemente H o un alquilo (tal como metilo) y M' puede ser un contraión catiónico o hidrógeno, $-(CH_2CH_2O)_{yy}CH_2CH_2XR^{yy}$, $-(CH_2CH_2O)_{yy}CH_2CH_2X-$, $-X(CH_2CH_2O)_{yy}CH_2CH_2-$, glicol y polietilenglicol, en donde yy se selecciona entre 1 y 1000, X se selecciona entre O, S y NR^{zz} , y R^{zz} y R^{yy} se seleccionan independientemente entre H y alquilo C_{1-3} .

30 El colorante polimérico puede tener cualquier longitud conveniente. En algunos casos, el número concreto de unidades o segmentos monoméricos repetidos del colorante polimérico puede estar comprendido entre 2 y 500.000, tal como de 2 a 100.000, de 2 a 30.000, de 2 a 10.000, de 2 a 3.000 o de 2 a 1.000 unidades o segmentos, o tal como de 100 a 100.000, de 200 a 100.000 o de 500 a 50.000 unidades o segmentos.

35 Los colorantes poliméricos pueden ser de cualquier peso molecular (MW) conveniente. En algunos casos, el MW del colorante polimérico puede expresarse como peso molecular medio. En algunos casos, el colorante polimérico tiene un peso molecular medio de 500 a 500.000, tal como de 1.000 a 100.000, de 2.000 a 100.000, de 10.000 a 100.000 o incluso un peso molecular medio de 50.000 a 100.000. En ciertas realizaciones, el colorante polimérico tiene un peso molecular medio de 70.000.

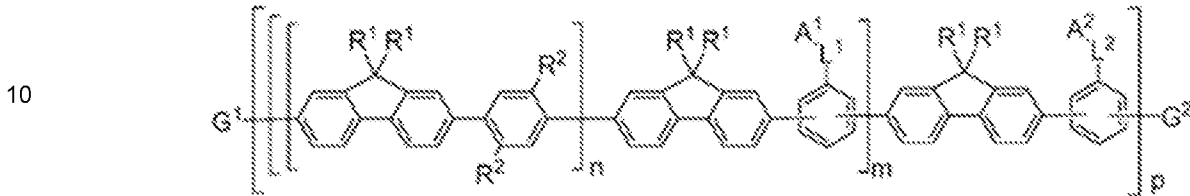


65 incluye la siguiente estructura:

En ciertos casos, el colorante polimérico

donde CP₁, CP₂, CP₃ y CP₄ son independientemente un segmento de polímero conjugado o una estructura oligomérica, en donde uno o más de CP₁, CP₂, CP₃ y CP₄ son unidades repetidas n-conjugadas reductoras de la banda prohibida, y cada n y cada m son independientemente 0 o un número entero de 1 a 10.000 y p es un número entero de 1 a 100.000.

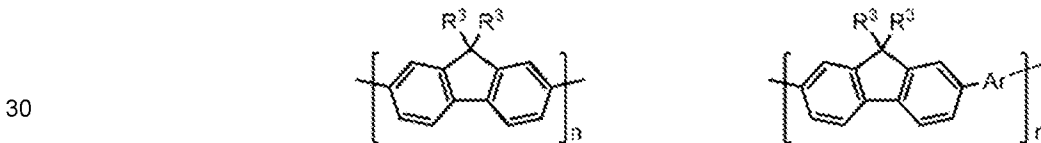
5 En algunos casos, el colorante polimérico incluye la siguiente estructura:



15 donde cada R¹ es independientemente un grupo solubilizante o un enlazador-colorante; L¹ y L² son enlazadores opcionales; cada R² es independientemente H o un sustituyente arilo; cada A¹ y A² es independientemente H, un sustituyente arilo o un fluoróforo; G¹ y G² se seleccionan cada uno independientemente entre el grupo que consiste en un grupo terminal, un segmento conjugado π, un enlazador y un miembro de unión específica enlazado; cada n y cada m son independientemente 0 o un número entero de 1 a 10.000; y p es un número entero de 1 a 100.000. Los grupos solubilizantes de interés incluyen grupos alquilo, arilo y heterociclo sustituidos además con un grupo hidrófilo como un polietilglicol (p. ej., un PEG de 2–20 unidades), un amonio, un sulfonio, un fosfonio y similares.

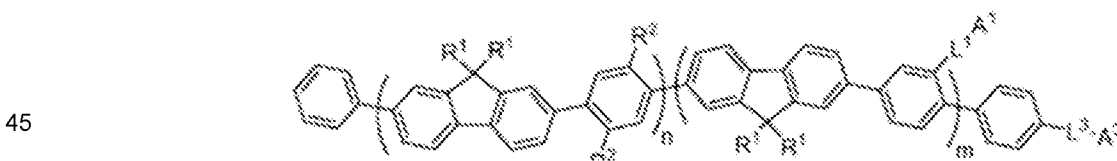
20

25 En algunos casos, el colorante polimérico incluye, como parte del armazón polimérico, un segmento conjugado que tiene una de las siguientes estructuras:



35 donde cada R³ es independientemente un grupo alquilo o arilo opcionalmente sustituido; Ar es un grupo arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido; y cada n es un número entero de 1 a 10.000. En ciertas realizaciones, R³ es un grupo alquilo opcionalmente sustituido. En ciertas realizaciones, R³ es un grupo arilo opcionalmente sustituido. En algunos casos, R³ está sustituido por un polietilenglicol, un colorante, un grupo funcional quimioselectivo o un resto de unión específico. En algunos casos, Ar se sustituye con un polietilenglicol, un colorante, un grupo funcional quimioselectivo o un resto de unión específico.

40 En algunos casos, el colorante polimérico incluye la siguiente estructura:



50 donde cada R¹ es independientemente un grupo solubilizante o un grupo enlazador-colorante; cada R² es independientemente H o un sustituyente arilo; cada L¹ y L³ son independientemente enlazadores opcionales; cada A¹ y A³ son independientemente H, un fluoróforo, un grupo funcional o un resto de unión específico (p. ej., un anticuerpo); y n y m son cada uno independientemente 0 o un número entero de 1 a 10.000, en donde n+m>1.

55 El colorante polimérico puede tener una o más propiedades espectroscópicas deseables, tal como una determinada longitud de onda máxima de absorción, una determinada longitud de onda máxima de emisión, coeficiente de extinción, rendimiento cuántico y similares (véase, p. ej., Chattopadhyay y col., “Brilliant violet fluorophores: A new class of ultrabright fluorescent compounds for immunofluorescence experiments”. *Cytometry Part A*, 81A(6), 456–466, 2012).

60 En algunas realizaciones, el colorante polimérico tiene una curva de absorción entre 280 nm y 475 nm. En ciertas realizaciones, el colorante polimérico tiene un máximo de absorción (máximo de excitación) en el intervalo de 280 nm y 475 nm. En algunas realizaciones, el colorante polimérico absorbe la luz incidente con una longitud de onda comprendida entre 280 nm y 475 nm.

65 En algunas realizaciones, el colorante polimérico tiene una longitud de onda máxima de emisión en el intervalo de 400 nm a 850 nm, tal como de 415 nm a 800 nm, donde los ejemplos específicos de máximos de emisión de interés incluyen, pero sin limitación: 421 nm, 510 nm, 570 nm, 602 nm, 650 nm, 711 nm y 786 nm. En algunos casos, el colorante polimérico tiene una longitud de onda máxima de emisión en un intervalo seleccionado entre el grupo que

consiste en de 410 nm a 430 nm, de 500 nm a 520 nm, de 560 nm a 580 nm, de 590 nm a 610 nm, de 640 nm a 660 nm, de 700 nm a 720 nm, y de 775 nm a 795 nm. En ciertas realizaciones, el colorante polimérico tiene una longitud de onda máxima de emisión de 421 nm. En algunos casos, el colorante polimérico tiene una longitud de onda máxima de emisión de 510 nm. En algunos casos, el colorante polimérico tiene una longitud de onda máxima de emisión de 570 nm. En ciertas realizaciones, el colorante polimérico tiene una longitud de onda máxima de emisión de 602 nm. En algunos casos, el colorante polimérico tiene una longitud de onda máxima de emisión de 650 nm. En ciertos casos, el colorante polimérico tiene una longitud de onda máxima de emisión de 711 nm. En algunas realizaciones, el colorante polimérico tiene una longitud de onda máxima de emisión de 786 nm. En ciertos casos, el colorante polimérico tiene una longitud de onda máxima de emisión de 421 nm \pm 5 nm. En algunas realizaciones, el colorante polimérico tiene una longitud de onda máxima de emisión de 510 nm \pm 5 nm. En ciertos casos, el colorante polimérico tiene una longitud de onda máxima de emisión de 570 nm \pm 5 nm. En algunos casos, el colorante polimérico tiene una longitud de onda máxima de emisión de 602 nm \pm 5 nm. En algunas realizaciones, el colorante polimérico tiene una longitud de onda máxima de emisión de 650 nm \pm 5 nm. En ciertos casos, el colorante polimérico tiene una longitud de onda máxima de emisión de 711 nm \pm 5 nm. En algunos casos, el colorante polimérico tiene una longitud de onda máxima de emisión de 786 nm \pm 5 nm. En ciertas realizaciones, el colorante polimérico tiene un máximo de emisión seleccionado entre el grupo que consiste en 421 nm, 510 nm, 570 nm, 602 nm, 650 nm, 711 nm y 786 nm.

En algunos casos, el colorante polimérico tiene un coeficiente de extinción molar de $1 \times 10^6 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ o más, tal como $2 \times 10^6 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ o más, $2,5 \times 10^6 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ o más, $3 \times 10^6 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ o más, $4 \times 10^6 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ o más, $5 \times 10^6 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ o más, $6 \times 10^6 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ o más, $7 \times 10^6 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ o más u $8 \times 10^6 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ o más. En ciertas realizaciones, el colorante polimérico tiene un rendimiento cuántico de 0,05 o más, tal como 0,1 o más, 0,15 o más, 0,2 o más, 0,25 o más, 0,3 o más, 0,35 o más, 0,4 o más, 0,45 o más, 0,5 o más, o incluso más. En ciertos casos, el colorante polimérico tiene un rendimiento cuántico de 0,1 o más. En ciertos casos, el colorante polimérico tiene un rendimiento cuántico de 0,3 o más. En ciertos casos, el colorante polimérico tiene un rendimiento cuántico de 0,5 o más. En algunas realizaciones, el colorante polimérico tiene un coeficiente de extinción de 1×10^6 o más y un rendimiento cuántico de 0,3 o más. En algunas realizaciones, el colorante polimérico tiene un coeficiente de extinción de 2×10^6 o más y un rendimiento cuántico de 0,5 o más.

En ciertas realizaciones, como se ha descrito anteriormente, el dispositivo de reactivos incluye más de una composición de colorante, tal como, por ejemplo, dos composiciones de colorante (p. ej., la primera y segunda composiciones de colorante). En estas realizaciones, las composiciones de colorante pueden ser composiciones de colorante polimérico, como se ha descrito anteriormente. Por ejemplo, el dispositivo de reactivos puede incluir la primera y segunda composiciones de colorante polimérico. Como se ha descrito anteriormente, el primer y segundo colorantes poliméricos pueden ser polímeros conjugados (PC). En ciertos casos, el primer y segundo colorantes poliméricos son polímeros conjugados solubles en agua, como se ha descrito anteriormente. En algunos casos, las composiciones de colorante incluidas en el dispositivo de reactivos pueden ser composiciones de colorante diferentes, tales como composiciones de colorante polimérico diferentes. Las diferentes composiciones de colorante pueden diferir entre sí en términos de composición química y/o en términos de una o más propiedades de los colorantes. Por ejemplo, las diferentes composiciones de colorantes pueden diferir entre sí por al menos uno de los máximos de excitación y de emisión. En algunos casos, las diferentes composiciones de colorantes difieren entre sí por sus máximos de excitación. En algunos casos, las diferentes composiciones de colorantes difieren entre sí por sus máximos de emisión. En algunos casos, las diferentes composiciones de colorantes difieren entre sí tanto por sus máximos de excitación como por sus máximos de emisión. Como tal, en las realizaciones que incluyen el primer y segundo colorantes, el primer y segundo colorantes pueden diferir entre sí por al menos uno de los máximos de excitación y máximos de emisión. Por ejemplo, el primer y segundo colorantes pueden diferir entre sí por los máximos de excitación, por los máximos de emisión o por los máximos de excitación y emisión. Pueden incluirse composiciones de colorante adicionales en el dispositivo de reactivos, donde cada una de las composiciones de colorante en el dispositivo de reactivos difieren entre sí como se ha descrito anteriormente.

En ciertas realizaciones, el dispositivo de reactivos también incluye otros tipos de composiciones de colorante, como una o más composiciones de colorante no polimérico. Como se ha comentado anteriormente, los colorantes pueden incluir restos o marcadores detectables que son detectables basándose, por ejemplo, en los máximos de emisión de fluorescencia, la polarización de fluorescencia, el tiempo de vida de la fluorescencia, la dispersión de la luz, la masa, la masa molecular o combinaciones de los mismos. En determinadas realizaciones, el colorante no polimérico incluye un fluoróforo (es decir, un marcador fluorescente, un colorante fluorescente, etc.). Los fluoróforos de interés pueden incluir, entre otros, colorantes adecuados para su uso en aplicaciones analíticas (p. ej., citometría de flujo, formación de imágenes, etc.). Un gran número de colorantes no poliméricos están disponibles comercialmente de diversas fuentes, tal como, por ejemplo, Molecular Probes (Eugene, OR) y Exciton (Dayton, OH). Por ejemplo, el fluoróforo del colorante no polimérico puede ser el ácido 4-acetamido-4'-isotiocianatostilbeno-2,2'-disulfónico; acridina y derivados como la acridina, el naranja de acridina, el amarillo de acridina, el rojo de acridina y el isotiocianato de acridina; ácido 5-(2'-aminoetil)aminaonaftaleno-1-sulfónico (EDANS); 4-amino-N-[3-vinilsulfonyl]fenil]naftalimida-3,5 disulfonato (Lucifer Yellow VS); N-(4-anilino-1-naftil)maleimida; antranilamida; Brilliant Yellow; cumarina y derivados, tal como cumarina, 7-amino-4-metilcumarina (AMC, Coumarin 120), 7-amino-4-trifluorometilcouluarina (Coumaran 151); cianina y derivados tales como cianosina, Cy3, Cy3.5, Cy5, Cy5.5 y Cy7; 4',6-diaminidino-2-fenilindol (DAPI); 5', 5''-dibromopirogalol-sulfoneftaleína (Bromopyrogallol Red); 7-dietilamino-3-(4'-isotiocianatofenil)-4-metilcumarina; dietilaminocumarina; pentaacetato de dietilentriamina; ácido 4,4'-isotiocianatodihidroestilbeno-2,2'-disulfónico; ácido 4,4'-isotiocianatostilbeno-2,2'-disulfónico; cloruro de 5-[dimetilamino]naftaleno-1-sulfonilo (DNS, cloruro de dansilo);

ácido 4-(4'-dimetilaminofenilazo)benzoico (DABCYL); 4-dimetilaminofenilazofenil-4'-isotiocianato (DABITC); eosina y derivados, tales como eosina e isotiocianato de eosina; eritrosina y derivados, tales como eritrosina B e isotiocianato de eritrosina; etidio; fluoresceína y derivados, tales como 5-carboxifluoresceína (FAM), 5-(4,6-diclorotriazin-2-il)aminofluoresceína (DTAF), 2'7'-dimetoxi-4'5'-dicloro-6-carboxifluoresceína (JOE), isotiocianato de fluoresceína (FITC), clorotriazinilfluoresceína, naftofluoresceína y QFITC (XRITC); fluorescamina; IR144; IR1446; Proteína verde fluorescente (GFP); Proteína fluorescente de coral de arrecife (RCFP); Lissamine™; Rodamina lisamina, Lucifer Yellow; Isotiocianato de verde de malaquita; 4-metilumbeliferona; orto cresolfaleína; nitrotirosina; pararrosanilina; rojo Nilo; verde Oregón; rojo de fenol; B-ficoeritrina (PE); o-ftaldialdehído; pireno y derivados, tales como pireno, butirato de pireno y succinimidil butirato de 1-pireno; Reactive Red 4 (Cibacron™ Brilliant Red 3B-A); rodamina y derivados, tales como 6-carboxi-X-rodamina (ROX), 6-carboxirodamina (R6G), 4,7-diclororodamina lisamina, sulfonil cloruro de rodamina B, rodamina (Rhod), rodamina B, rodamina 123, isotiocianato de rodamina X, sulforodamina B, sulforodamina 101, derivado de sulfonil cloruro de sulforodamina 101 (Texas Red), N,N,N',N'-tetrametil-6-carboxirodamina (TAMRA), tetrametil rodamina e isotiocianato de tetrametil rodamina (TRITC); riboflavina; derivados del ácido rosólico y del quelato de terbio; xanteno; complejos de carotenoide-proteína, tales como proteínas peridina-clorofila (PerCP); alofocianina (APC); o combinaciones de los mismos.

En ciertas realizaciones, las composiciones de colorante incluidas en el dispositivo de reactivos incluyen composiciones de colorante polimérico, como se ha descrito anteriormente. En algunos casos, las composiciones de colorante incluidas en el dispositivo de reactivos incluyen composiciones de colorante no polimérico, como se ha descrito anteriormente. En algunos casos, las composiciones de colorante incluidas en el dispositivo de reactivos incluyen tanto composiciones de colorante polimérico como composiciones de colorante no polimérico. Como se ha descrito anteriormente, cada una de las composiciones de colorante (p. ej., composiciones de colorante polimérico y no polimérico) puede colocarse claramente sobre una superficie del soporte sólido del dispositivo de reactivos. En algunos casos, el dispositivo de reactivos incluye una pluralidad de composiciones de colorante como las descritas anteriormente. Por ejemplo, el dispositivo de reactivos puede incluir dos o más, tal como tres o más, composiciones de colorante polimérico distintas y dos o más, tal como tres o más, o cuatro o más, o cinco o más, composiciones de colorante no polimérico distintas. En algunos casos, el dispositivo de reactivos incluye tres o más composiciones de colorante polimérico distintas y cinco o más composiciones de colorante no polimérico distintas.

Como se ha descrito anteriormente, el dispositivo de reactivos puede incluir tanto una composición de colorante polimérico como una composición de colorante no polimérico. En algunos casos, una composición de colorante polimérico se mezcla con una composición de colorante no polimérico. En ciertas realizaciones, la mezcla de la composición de colorante polimérico y la composición de colorante no polimérico no sufre interacciones colorante-colorante significativas entre la composición de colorante polimérico y la composición de colorante no polimérico. Por ejemplo, la energía de emisión de fluorescencia de la composición de colorante polimérico no se extingue significativamente por interacciones con la composición de colorante no polimérico. En algunos casos, la energía de emisión de fluorescencia de la composición de colorante polimérico no se disipa significativamente por una transición no radiativa. En estas realizaciones, la fluorescencia detectable de la composición de colorante polimérico no es significativamente menor de lo que cabría esperar en comparación con la fluorescencia de la composición de colorante polimérico en ausencia de la composición de colorante no polimérico. Del mismo modo, en algunas realizaciones, la energía de emisión de fluorescencia de la composición de colorante no polimérico no se extingue significativamente por las interacciones con la composición de colorante polimérico. Por ejemplo, la energía de emisión de fluorescencia de la composición de colorante no polimérico puede no disiparse significativamente por una transición no radiativa. En estas realizaciones, la fluorescencia detectable de la composición de colorante no polimérico no es significativamente menor de lo que cabría esperar en comparación con la fluorescencia de la composición de colorante no polimérico en ausencia de la composición de colorante polimérico.

En ciertas realizaciones, la composición de colorante incluye un colorante, tal como un colorante polimérico y/o no polimérico, como se ha descrito anteriormente. La composición de colorante también puede incluir otros componentes, tales como, pero sin limitación, un disolvente, un tampón, un estabilizante, y similares. Por ejemplo, la composición de colorante puede incluir un estabilizante que reduzca y/o impida sustancialmente la degradación del colorante en la composición de colorante. En algunos casos, la presencia de un estabilizante en la composición de colorante es suficiente para reducir y/o prevenir sustancialmente la degradación del colorante en la composición de colorante durante un cierto período de tiempo, tal como 24 horas o más, o 48 horas o más, o 72 horas o más, o 4 días o más, o 5 días o más, o 6 días o más, o 1 semana o más, o 2 semanas o más, o 3 semanas o más, o 4 semanas o más, o 2 meses o más, o 3 meses o más, o 4 meses o más, o 5 meses o más, o 6 meses o más, o 9 meses o más, o 1 año o más. Algunos ejemplos de estabilizantes incluyen, pero sin limitación, albúmina de suero bovino (BSA), azida sódica, glicerol, fluoruro de fenilmetanosulfonilo (PMSF), y similares. También pueden estar presentes en la composición aditivos adicionales, tales como aditivos que preserven las células presentes en la sangre completa, p. ej., factor estabilizante de plaquetas, y similares. Algunos ejemplos de aditivos que pueden incluirse en la composición son anticoagulantes, tales como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), tampón citrato, heparina y similares. La composición puede incluir estos aditivos en estado líquido o seco.

En ciertas realizaciones, el dispositivo de reactivos también incluye un patrón de calibración. El patrón de calibración puede ser útil para determinar la precisión del ensayo y para garantizar la coherencia entre ensayos posteriores. En algunos casos, el patrón de calibración incluye una microesfera marcada, tal como una microesfera marcada con fluorescencia. La microesfera marcada con fluorescencia puede ser una microesfera marcada con fluorescencia estándar que suele utilizarse como patrón de calibración. Algunos ejemplos de microesferas estándar marcadas con fluorescencia incluyen, pero sin

limitación, micropartículas o nanopartículas marcadas con fluorescencia. En algunos casos, las microesferas marcadas con fluorescencia están configuradas de tal manera que permanecen suspendidas en la mezcla de ensayo y no se sedimentan ni agregan sustancialmente. En algunas realizaciones, las microesferas marcadas fluorescentemente incluyen, entre otras, microesferas de poliestireno marcadas fluorescentemente, microesferas de fluoresceína, microesferas de rodamina y otras microesferas marcadas con un colorante fluorescente. Otros ejemplos de microesferas marcadas con fluorescencia se describen en las patentes estadounidenses n.º 6.350.619; 7.738.094; y 8.248.597.

En algunos casos, los dispositivos de reactivos facilitan el almacenamiento de la composición de colorante durante un largo periodo de tiempo. Por ejemplo, un dispositivo de reactivo puede ser un dispositivo de reactivo estable durante el almacenamiento. En algunos casos, las composiciones de colorante contenidas en el dispositivo de reactivos son composiciones de colorante estables durante el almacenamiento, donde las composiciones de colorante son sustancialmente estables durante un periodo de tiempo prolongado. Por “estable” o “estable durante el almacenamiento” o “sustancialmente estable” se entiende una composición de colorante que no se degrada significativamente y/o pierde actividad durante un periodo prolongado de tiempo. Por ejemplo, una composición de colorante estable durante el almacenamiento puede no tener una pérdida significativa de actividad de fluorescencia debida a la degradación de la composición de colorante durante un periodo de tiempo prolongado, tal como un 10 % o menos de pérdida de actividad de fluorescencia, o un 9 % o menos, o un 8 % o menos, o un 7 % o menos, o un 6 % o menos, o un 5 % o menos, o un 4 % o menos, o un 3 % o menos, o un 2 % o menos, o un 1 % o menos de pérdida de actividad de fluorescencia durante un periodo de tiempo prolongado. En ciertos casos, una composición de colorante estable durante el almacenamiento tiene un 5 % o menos de pérdida de actividad de fluorescencia a lo largo de un periodo de tiempo prolongado. En algunos casos, una composición de colorante estable durante el almacenamiento conserva sustancialmente su actividad de fluorescencia durante un periodo de tiempo prolongado, tal como conserva el 100 % de su actividad, o el 99 % o más, o el 98 % o más, o el 97 % o más, o el 96 % o más, o el 95 % o más, o el 94 % o más, o el 93 % o más, o el 92 % o más, o el 91 % o más, o el 90 % o más, o el 85 % o más, o el 80 % o más, o el 75 % o más de su actividad durante un periodo de tiempo prolongado. Por ejemplo, una composición de colorante estable durante el almacenamiento puede conservar el 90 % o más de su actividad de fluorescencia durante un periodo de tiempo prolongado. En algunos casos, una composición estable durante el almacenamiento conserva el 95 % o más de su actividad de fluorescencia durante un periodo de tiempo prolongado. Un periodo de tiempo prolongado es un periodo de tiempo, tal como 1 semana o más, o 2 semanas o más, o 3 semanas o más, o 1 mes o más, o 2 meses o más, o 3 meses o más, o 4 meses o más, o 6 meses o más, o 9 meses o más, o 1 año o más, o 1,5 años (p. ej., 18 meses) o más, o 2 años o más, o 2,5 años (p. ej., 30 meses) o más, o 3 años o más, o 3,5 años (p. ej., 42 meses) o más, o 4 años o más, o 4,5 años (p. ej., 54 meses) o más, o 5 años o más. Por ejemplo, un periodo de tiempo prolongado puede ser de 6 meses o más. En algunos casos, un periodo de tiempo prolongado es de 9 meses o más. En algunos casos, un periodo de tiempo prolongado es de 1 año (p. ej., 12 meses) o más. En algunos casos, un periodo de tiempo prolongado es de 1,5 años (p. ej., 18 meses) o más. En algunos casos, un periodo de tiempo prolongado es de 2 años (p. ej., 24 meses) o más. En algunos casos, el periodo de tiempo prolongado es de 10 años o menos, tal como 7,5 años o menos, incluidos 5 años o menos, p. ej., 2 años o menos.

En la Figura 1 se muestra un ejemplo de un dispositivo de reactivos según las realizaciones de la presente descripción. En la Figura 1, el dispositivo de reactivos **10** está configurado como un vial o tubo de ensayo; p. ej., el dispositivo de reactivos **10** incluye un soporte sólido **12** en forma de un vial (tubo de ensayo). El dispositivo de reactivos **10** incluye tres composiciones de colorante polimérico secas diferentes (**14**, **16**, **18**) sobre una superficie del soporte sólido **12**. Las tres composiciones de colorante polimérico (**14**, **16**, **18**) en una superficie del soporte sólido **12** están claramente posicionadas una respecto a la otra en la superficie del soporte sólido **12**.

Métodos de uso

Los aspectos de la presente descripción también incluyen métodos de uso del presente dispositivo de reactivos. Como se ha descrito anteriormente, el dispositivo de reactivos puede incluir un soporte sólido y una o más composiciones de colorante polimérico (p. ej., la primera y segunda composiciones de colorante polimérico) colocadas claramente sobre una superficie del soporte sólido. Las composiciones de colorante polimérico pueden ser composiciones de colorante polimérico secas. Como tal, el método de uso del dispositivo de reactivos incluye la reconstitución de la composición de colorante. En ciertas realizaciones, el método incluye combinar un volumen de un líquido y el dispositivo de reactivos de manera suficiente para producir una composición de colorante reconstituida. El volumen de líquido puede añadirse al dispositivo de reactivos utilizando cualquier aparato de manipulación de líquidos conveniente, tal como, pero sin limitación, jeringas, agujas, pipetas, aspiradores, entre otros dispositivos de manipulación de líquidos.

En algunos casos, como se ha descrito anteriormente, el soporte sólido está configurado como un recipiente para líquidos, y como tal incluye una superficie interior y una superficie exterior. Como se ha descrito anteriormente, la superficie interior del recipiente para líquidos tiene una o más composiciones de colorantes poliméricos secas. En estos casos, la etapa de combinación del método puede incluir la colocación del volumen de líquido dentro del recipiente para líquidos. Al colocar el volumen de líquido dentro del recipiente para líquidos, el líquido puede entrar en contacto con las composiciones de colorante polimérico secas en la superficie interior del recipiente para líquidos. En algunos casos, el líquido (p. ej., agua) puede ser absorbido por las composiciones de colorante polimérico secas, reconstituyendo así las composiciones de colorante polimérico secas.

5 En algunas realizaciones, el líquido incluye una muestra biológica. En algunos casos, la muestra biológica puede proceder de fluidos biológicos específicos, tales como, por ejemplo, sangre, moco, líquido linfático, líquido sinovial, líquido cefalorraquídeo, saliva, lavado broncoalveolar, líquido amniótico, sangre de cordón amniótico, orina, flujo vaginal y semen. En algunas realizaciones, la muestra biológica incluye sangre completa o una fracción de la misma. En algunas realizaciones, la muestra biológica incluye plasma sanguíneo.

10 En ciertas realizaciones, el dispositivo de reactivos es un dispositivo de reactivos sellado, tal como donde el dispositivo de reactivos incluye un cierre (p. ej., un cierre estanco y/o hermético). En estos casos, el método puede incluir la retirada del cierre antes de colocar el volumen de líquido dentro del recipiente para líquidos. La retirada del cierre del dispositivo de reactivos puede exponer el contenido del recipiente para líquidos al entorno circundante y permitir el acceso al volumen interior del recipiente para líquidos. Por tanto, un usuario que tenga acceso al volumen interior del recipiente para líquidos puede posicionar el volumen de líquido dentro del recipiente para líquidos para la reconstitución de las composiciones de colorante polimérico secas dentro del recipiente para líquidos.

15 En ciertas realizaciones, el método también incluye mezclar el contenido del recipiente para líquidos después de colocar el volumen de líquido dentro del recipiente para líquidos. La mezcla puede realizarse utilizando cualquier protocolo conveniente. Por ejemplo, la mezcla puede realizarse utilizando un agitador. El agitador puede ser cualquier agitador conveniente suficiente para mezclar el líquido dentro del recipiente para líquidos, incluyendo, pero no limitado a, agitadores vorticiales, baños de ultrasonidos, agitadores (por ejemplo, agitadores manuales, mecánicos o eléctricos), mecadores, placas oscilantes, agitadores magnéticos, mezcladoras estáticas, rotadores, mezcladoras, batidoras, volteadoras, agitadores orbitales, entre otros protocolos de agitación.

25 En algunos casos, el método también incluye el ensayo de la composición de colorante reconstituida. El ensayo de la composición de colorante reconstituida puede realizarse utilizando cualquier aparato de ensayo adecuado. Por ejemplo, el aparato de ensayo puede ser un citómetro de flujo. En estas realizaciones, el ensayo incluye el análisis por citometría de flujo de la composición de colorante reconstituida. En algunos casos, el ensayo incluye poner en contacto la composición de colorante reconstituida con radiación electromagnética (p. ej., luz), tal como radiación electromagnética que tiene una longitud de onda que corresponde a los máximos de excitación de la composición de colorante reconstituida. El ensayo puede incluir además la detección de la luz emitida por las composiciones de colorante excitadas. Por ejemplo, el método puede incluir la detección de la luz emitida por las composiciones de colorante excitadas en una o más longitudes de onda que corresponden a los máximos de emisión de las composiciones de colorante.

35 Los sistemas y métodos de citometría de flujo adecuados para analizar muestras que pueden emplearse en los métodos de la invención incluyen, pero sin limitación, los descritos en Ormerod (ed.), *Flow Cytometry: A Practical Approach*, Oxford Univ. Pulse (1997); Jaroszeski y col. (eds.), *Flow Cytometry Protocols*, Methods in Molecular Biology No. 91, Humana Press (1997); *Practical Flow Cytometry*, 3.^a ed., Wiley-Liss (1995); Virgo, y col. (2012) *Ann Clin Biochem*. Ene;49(pt 1): 17–28; Linden, y col., *Semin Throm Hemost*. octubre de 2004;30(5):502–11; Alison, y col. *J Pathol*, diciembre de 2010; 222(4):335-344; y Herbig, y col. (2007) *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*. 24(3):203-255.

40 En ciertos casos, los sistemas de citometría de flujo de interés incluyen los citómetros de flujo FACSCanto™ y FACSCanto II™ de BD Biosciences, los sistemas BD Biosciences FACSVantage™, BD Biosciences FACSsort™, BD Biosciences FACSCount™, BD Biosciences FACScan™ y BD Biosciences FACSCalibur™, el clasificador de células BD Biosciences Influx™, el citómetro de flujo BD Biosciences Accuri™ C6; el citómetro de flujo BD Biosciences LSRFortessa™, el citómetro de flujo BD Biosciences LSRFortessa™ X-20, el citómetro de flujo BD Biosciences FACSVerse™, los citómetros de flujo BD Biosciences FACSria™ III y BD FACSria™ Fusion, el citómetro de flujo BD Biosciences FACSJazz™, o similares. En determinadas realizaciones, los presentes sistemas son sistemas de citometría de flujo, como los descritos en las patentes estadounidenses n.º 3.960.449; 4.347.935; 4.667.830; 5.245.318; 5.464.581; 5.483.469; 5.602.039; 5.643.796; 5.700.692; 6.372.506 y 6.809.804.

50 También pueden utilizarse otros métodos de análisis, como, por ejemplo, sistemas de cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas o de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Por ejemplo, el ensayo puede incluir el uso de un dispositivo de separación analítica como un cromatógrafo de líquidos (LC), incluido un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC), un micro o nano cromatógrafo de líquidos o un dispositivo de cromatografía de líquidos a ultraalta resolución (UHPLC), un aparato de electroforesis capilar (CE) o un cromatógrafo de electroforesis capilar (CEC). También pueden utilizarse sistemas de espectrometría de masas (MS) para analizar las composiciones de colorante. Algunos ejemplos de espectrómetros de masas pueden ser, entre otros, la ionización por electronebulización (ESI), la ionización química a presión atmosférica (APCI), el impacto de electrones (EI), la fotoionización a presión atmosférica (APPI), la ionización por desorción láser asistida por matriz (MALDI) o la ionización por plasma acoplado inductivamente (ICP), por ejemplo, o cualquier combinación de los mismos. Asimismo, puede emplearse cualquiera de los diferentes analizadores de masas, incluidos los analizadores de tiempo de vuelo (TOF), resonancia de ciclotrón iónico por transformada de Fourier (FTICR), trampa de iones, cuadrupolo o analizadores de masas de sector eléctrico magnético de doble enfoque, o cualquier híbrido de los mismos.

65 En ciertas realizaciones, el dispositivo de reactivos está incluido en un aparato que está totalmente automatizado. Por “totalmente automatizado” se entiende que el aparato recibe un dispositivo de reactivos y prepara una composición de colorante reconstituido con poca o ninguna intervención humana o entrada manual en los presentes

sistemas. En ciertas realizaciones, los presentes sistemas están configurados para preparar y analizar la composición de colorante reconstituida sin ninguna intervención humana.

En ciertas realizaciones, el método también incluye el almacenamiento de la composición de colorante reconstituida durante un periodo de tiempo. La composición de colorante reconstituida puede almacenarse durante un periodo de tiempo antes, durante y/o después del análisis de la composición de colorante reconstituida. En algunos casos, la composición de colorante reconstituida se almacena durante un periodo de tiempo, tal como 24 horas o más, o 48 horas o más, o 72 horas o más, o 4 días o más, o 5 días o más, o 6 días o más, o 1 semana o más, o 2 semanas o más, o 3 semanas o más, o 4 semanas o más, o 2 meses o más, o 3 meses o más, o 4 meses o más, o 5 meses o más, o 6 meses o más, o 9 meses o más, o 1 año o más. En ciertos casos, la composición de colorante reconstituida se almacena durante 24 horas o más. En ciertos casos, la composición de colorante reconstituida se almacena durante 48 horas o más. En ciertos casos, la composición de colorante reconstituida se almacena durante 72 horas o más. En ciertos casos, la composición de colorante reconstituida se almacena durante 1 semana o más. En ciertos casos, la composición de colorante reconstituida se almacena durante 2 semanas o más. En ciertos casos, la composición de colorante reconstituida se almacena durante 3 semanas o más.

Las realizaciones del método pueden incluir además el envío de la composición de colorante reconstituida a una ubicación remota. Una "ubicación remota" es una ubicación distinta de la ubicación donde se reconstituye la composición de colorante. Por ejemplo, una ubicación remota puede ser otra ubicación (p. ej., una oficina, un laboratorio, etc.) en la misma ciudad, otra ubicación en una ciudad diferente, otra ubicación en un estado diferente, otra ubicación en un país diferente, etc. Por tanto, cuando se indica que un elemento está "alejado" de otro, lo que se quiere decir es que los dos elementos pueden estar en la misma habitación pero separados, o al menos en diferentes habitaciones o diferentes edificios, y pueden estar al menos a un kilómetro, diez kilómetros o cien kilómetros o más de distancia.

Métodos de fabricación

Los aspectos de la presente descripción también incluyen métodos de fabricación de un dispositivo de reactivos como el descrito en la presente memoria. En ciertas realizaciones, el método de fabricación incluye posicionar claramente una o más composiciones de colorante sobre una superficie del soporte sólido. Por ejemplo, el método de fabricación puede incluir el posicionamiento claro de dos o más composiciones de colorante (p. ej., la primera y segunda composiciones de colorante) sobre una superficie del soporte sólido. En algunos casos, las composiciones de colorante son composiciones de colorante polimérico (p. ej., la primera y segunda composiciones de colorante polimérico) colocadas claramente sobre una superficie del soporte sólido, como se describe en la presente memoria.

Como se describe en la presente memoria, las composiciones de colorante polimérico pueden ser composiciones de colorante polimérico secas. Como tal, el método de fabricación puede incluir posicionar una composición de colorante polimérico seca sobre una superficie del soporte sólido. Las composiciones de colorante polimérico secas pueden colocarse sobre la superficie del soporte sólido utilizando cualquier protocolo conveniente, como, por ejemplo, pulverización, impresión u otro método de deposición.

En ciertas realizaciones, la composición de colorante se coloca primero sobre la superficie del soporte sólido y luego se seca la composición de colorante para proporcionar una composición de colorante seca sobre la superficie del soporte sólido. En estas realizaciones, la composición de colorante puede proporcionarse como una composición de colorante líquida y la composición de colorante líquida puede colocarse claramente en la superficie del soporte sólido. La composición de colorante líquida claramente posicionada puede secarse para proporcionar una composición de colorante seca claramente posicionada sobre la superficie del soporte sólido. La composición de colorante líquida puede colocarse claramente sobre la superficie del soporte sólido utilizando cualquier aparato de manipulación de líquidos conveniente, tal como, pero sin limitación, jeringas, agujas, pipetas, aspiradores, entre otros dispositivos de manipulación de líquidos. En algunos casos, la composición de colorante líquida puede colocarse claramente sobre la superficie del soporte sólido utilizando una impresora, como, por ejemplo, una impresora de chorro de tinta. Una composición de colorante líquida que esté claramente posicionada en la superficie del soporte sólido puede secarse utilizando cualquier protocolo de secado conveniente. En algunos casos, el soporte sólido puede calentarse o colocarse en un entorno a una temperatura superior a las condiciones estándar. En ciertos casos, la temperatura es una temperatura superior a las condiciones estándar que es suficiente para secar la composición de colorante líquida, pero inferior a una temperatura que causaría la degradación de la composición de colorante. Por ejemplo, el soporte sólido puede calentarse a una temperatura comprendida entre 30 °C y 50 °C, por ejemplo entre 30 °C y 45 °C, para obtener una composición de colorante seca. En ciertas realizaciones, la temperatura se aplica al soporte sólido durante un tiempo suficiente para secar la composición de colorante, tal como 1 min o más, o 5 min o más, o 10 min o más, o 15 min o más, o 20 min o más, o 30 min o más. En las realizaciones que incluyen dos o más composiciones de colorante en la superficie del soporte sólido, las diferentes composiciones de colorante pueden colocarse y secarse en la superficie del soporte sólido secuencialmente, o cada composición de colorante puede colocarse en la superficie del soporte sólido y todas las composiciones de colorante pueden secarse simultáneamente.

Como se describe en la presente memoria, el dispositivo de reactivos puede incluir dos o más composiciones de colorante (p. ej., composiciones de colorante polimérico) claramente colocadas sobre una superficie de un soporte sólido. Como tal, en algunos casos, el método incluye el posicionamiento de las composiciones de colorante en lugares separados de la superficie del soporte sólido. Por ejemplo, el método puede incluir la colocación de la primera y

segunda composiciones de colorante polimérico en lugares separados de la superficie del soporte sólido. Pueden proporcionarse composiciones de colorante adicionales en la superficie del soporte sólido, tal como una tercera composición de colorante polimérico. En estas realizaciones, el método puede incluir además posicionar claramente la tercera composición de colorante polimérico sobre la superficie del soporte sólido. Las composiciones de colorante polimérico y/o no polimérico adicionales también pueden colocarse claramente en la superficie del soporte sólido.

En ciertas realizaciones, el dispositivo de reactivos incluye dos o más composiciones de colorante (p. ej., composiciones de colorante polimérico) colocadas juntas en la misma ubicación de la superficie del soporte sólido. Por consiguiente, en estas realizaciones el método puede incluir la colocación de las composiciones de colorante en la misma ubicación de la superficie del soporte sólido. Por ejemplo, el método puede incluir colocar juntas la primera y segunda composiciones de colorante (p. ej., la primera y segunda composiciones de colorante polimérico) en la misma ubicación de la superficie del soporte sólido. En algunos casos, el método también incluye la colocación de un material no colorante entre las composiciones de colorante colocadas en la misma ubicación. Por ejemplo, el método puede incluir la colocación de un material no colorante entre la primera y segunda composiciones de colorante polimérico. En el mismo lugar de la superficie del soporte sólido pueden colocarse composiciones de colorante adicionales, como una tercera composición de colorante polimérico. En estas realizaciones, el método puede incluir además posicionar claramente la tercera composición de colorante polimérico en la misma ubicación de la superficie del soporte sólido. Las composiciones de colorante polimérico y/o no polimérico adicionales también pueden colocarse claramente en el mismo lugar de la superficie del soporte sólido.

Después de colocar las composiciones de colorante sobre la superficie del soporte sólido (p. ej., el recipiente para líquidos), el método puede incluir además el sellado del soporte sólido (p. ej., el recipiente para líquidos). Por ejemplo, el método puede incluir la aplicación de un cierre al recipiente para líquidos. Como se ha descrito anteriormente, el cierre puede ser estanco y/o hermético. En algunos casos, el cierre es desprendible o rompible, lo que permite al usuario acceder posteriormente al contenido del recipiente para líquidos.

Como se ha descrito anteriormente, el dispositivo de reactivos también puede incluir un patrón de calibración, como microesferas patrón marcadas fluorescentemente. En estas realizaciones, el método puede incluir además la colocación de un conjunto de microesferas patrón marcadas fluorescentemente en la superficie del soporte sólido. La colocación puede realizarse utilizando cualquier técnica adecuada para manipular microesferas. Por ejemplo, las microesferas pueden proporcionarse en un líquido, como una suspensión de microesferas en un líquido. En estos casos, el líquido que contiene las microesferas puede colocarse sobre la superficie del soporte sólido utilizando cualquier aparato conveniente para la manipulación de líquidos, tal como, pero sin limitación, jeringas, agujas, pipetas, aspiradores, entre otros dispositivos de manipulación de líquidos. En algunos casos, el líquido que contiene las microesferas puede colocarse sobre la superficie del soporte sólido utilizando una impresora, tal como, pero sin limitación, una impresora de chorro de tinta.

Kits

Los aspectos de la descripción también incluyen kits que incluyen uno de los presentes dispositivos de reactivos. En ciertas realizaciones, el kit incluye uno de los presentes dispositivos de reactivos y un envase configurado para contener el dispositivo de reactivos. El envase puede ser un envase sellado, p. ej., un recipiente resistente al vapor de agua, opcionalmente con cierre hermético y/o al vacío. En ciertos casos, el envase es un envase estéril, configurado para mantener el dispositivo encerrado en el envase en un ambiente estéril. Por "estéril" se entiende que prácticamente no hay microbios (como hongos, bacterias, virus, formas de esporas, etc.). Los kits pueden incluir además un tampón. Por ejemplo, el kit puede incluir un tampón, como un tampón de muestra, un tampón de lavado, un tampón de ensayo y similares. Los kits pueden incluir además reactivos adicionales, tales como, pero sin limitación, marcadores detectables (p. ej., marcadores fluorescentes, marcadores colorimétricos, marcadores quimioluminiscentes, reactivos multicolor, reactivos de detección asociados a avidina-estreptavidina, radiomarcadores, partículas de oro, marcadores magnéticas, etc.), y similares. En determinadas realizaciones, los kits también pueden incluir un patrón de calibración. Por ejemplo, los kits pueden incluir un conjunto de microesferas marcadas, tal como un conjunto de microesferas estándar marcadas con fluorescencia.

Además de los componentes anteriores, los presentes kits pueden incluir, además (en determinadas realizaciones), instrucciones para practicar los presentes métodos. Estas instrucciones pueden encontrarse en los kits objeto en una variedad de formas, una o más de las cuales pueden encontrarse en el kit. Una forma para que estén presentes estas instrucciones es como información impresa en un medio o sustrato adecuado, p. ej., una o varias hojas de papel donde esté impresa la información, en el embalaje del kit, en un prospecto, etc. Otro medio sería un soporte legible por ordenador, p. ej., CD, DVD, Blu-Ray, memoria legible por ordenador (p. ej., memoria flash), etc., donde se haya grabado o almacenado la información. Otra forma más que puede estar presente es una dirección de sitio web que pueda utilizarse a través de internet para acceder a la información en un sitio distante. Los kits pueden contener instrucciones de cualquier tipo.

Utilidad

Los presentes dispositivos de reactivos y métodos son útiles en aplicaciones donde se desea el análisis de células de una muestra biológica para investigación, pruebas de laboratorio o para su uso en tratamientos. En algunas realizaciones, los presentes dispositivos de reactivos y métodos facilitan el análisis de células obtenidas a partir de muestras de fluidos o tejidos, tales como especímenes para enfermedades, lo que incluye, pero sin limitación, el

cáncer. Los dispositivos de reactivos y métodos de la presente descripción también permiten analizar las células de una muestra biológica (p. ej., órgano, tejido, fragmento de tejido, fluido) con una eficiencia mejorada y bajo coste.

Los presentes dispositivos de reactivos y métodos se utilizan en aplicaciones donde se desea analizar una muestra utilizando dos o más composiciones de colorante. Por ejemplo, los presentes dispositivos de reactivos y métodos se utilizan en aplicaciones donde se desea analizar una muestra utilizando dos o más composiciones de colorante polimérico. Las realizaciones de los presentes dispositivos de reactivos y métodos también se utilizan en aplicaciones donde se desea analizar una muestra utilizando dos o más composiciones de colorante polimérico en combinación con una o más composiciones de colorante no polimérico. Por tanto, los presentes dispositivos de reactivos y métodos se utilizan en aplicaciones donde se analiza una muestra para dos o más analitos de interés utilizando dos o más composiciones de colorante polimérico correspondientes. En algunos casos, cuando las composiciones de colorante no polimérico también se incluyen en los dispositivos de reactivos, los presentes dispositivos de reactivos y métodos se utilizan en aplicaciones donde una muestra se analiza para dos o más analitos de interés utilizando dos o más composiciones de colorante polimérico y composiciones de colorante no polimérico correspondientes.

Los presentes dispositivos de reactivos y métodos se utilizan en aplicaciones donde se desea minimizar las interacciones colorante-colorante. Como se describe en la presente memoria, los presentes dispositivos de reactivos y métodos proporcionan dos o más composiciones de colorante polimérico secas que están claramente posicionadas en una superficie de un soporte sólido. De este modo, el posicionamiento diferenciado de las composiciones de colorante entre sí en la superficie del soporte sólido facilita una minimización de las interacciones colorante-colorante. Una minimización de las interacciones colorante-colorante puede facilitar la obtención de datos más precisos y/o exactos con respecto a los ensayos realizados utilizando los presentes dispositivos de reactivos. Por ejemplo, los presentes dispositivos de reactivos y métodos pueden facilitar una reducción de las interacciones colorante-colorante en comparación con los dispositivos de reactivos donde se proporcionan dos o más composiciones de colorante pero no están claramente posicionadas una respecto a la otra.

Como puede apreciarse a partir de la descripción proporcionada anteriormente, las realizaciones de la presente descripción tienen una amplia variedad de aplicaciones. Por consiguiente, los ejemplos presentados en la presente memoria se ofrecen con fines ilustrativos y no pretenden ser interpretados como una limitación de las realizaciones de la presente descripción de ninguna manera. Los expertos en la materia reconocerán fácilmente una variedad de parámetros no críticos que podrían cambiarse o modificarse para obtener resultados esencialmente similares. Por lo tanto, los siguientes ejemplos se exponen con el fin de proporcionar a los expertos en la materia una descripción completa de cómo realizar y utilizar las realizaciones de la presente descripción, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran su invención ni que los experimentos que se exponen a continuación sean todos o los únicos experimentos realizados. Se ha procurado garantizar la exactitud de las cifras utilizadas (p. ej., cantidades, temperatura, etc.), pero deben tenerse en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular promedio en peso, la temperatura es en grados Celsius y la presión es atmosférica o cercana a la atmosférica.

Ejemplos

Ejemplo 1

Se realizaron experimentos para producir y probar un dispositivo de reactivos con tres composiciones de colorante polimérico secas claramente posicionadas según las realizaciones de la presente descripción.

Una primera composición de colorante polimérico (BV510, una composición de colorante polimérico que tiene un máximo de excitación a 405 nm y un máximo de emisión a 510 nm; BD Biosciences, Nueva Jersey) se colocó en un primer lugar de la superficie interior de un vial y se secó. Una segunda composición de colorante polimérico (BV421, una composición de colorante polimérico que tiene un máximo de excitación a 407 nm y un máximo de emisión a 421 nm; BD Biosciences, Nueva Jersey) se colocó claramente en un segundo lugar separado de la superficie interior del vial y se secó. Una tercera composición de colorante polimérico (BV605, una composición de colorante polimérico que incluye un fluorocromo en tándem que es una combinación de BV421 y Cy™ 3.5 que tiene un máximo de excitación a 407 nm y un máximo de emisión a 602 nm; BD Biosciences, Nueva Jersey) se colocó claramente en un tercer lugar separado de la superficie interior del vial y se secó. Cy™ 3.5 es un colorante de cianina que puede ser excitado por láser verde (532 nm) y amarillo-verde (561 nm). Se añadió una muestra al vial para producir una composición de colorante reconstituido y se analizó mediante citometría de flujo. Las gráficas de los resultados del ensayo se muestran en la Figura 2 e indican que hubo una minimización en las interacciones colorante-colorante.

Ejemplo 2

Se realizaron experimentos para producir y probar un dispositivo de reactivos con tres composiciones de colorante polimérico secas y siete composiciones de colorante no polimérico claramente posicionadas según las realizaciones de la presente descripción.

Una primera composición de colorante polimérico (BV605, una composición de colorante polimérico que incluye un fluorocromo en tándem que es una combinación de BV421 y Cy™ 3.5 que tiene un máximo de excitación a 407 nm y un máximo de emisión a 602 nm; BD Biosciences, Nueva Jersey) y una segunda composición de colorante polimérico (BV421, una composición de colorante polimérico que tiene un máximo de excitación a 407 nm y un máximo de emisión a 421 nm; BD Biosciences, Nueva Jersey) se colocaron en dos puntos distintos de la superficie interior de un vial y se secaron. Una tercera composición de colorante polimérico (BV510, una composición de colorante polimérico que tiene un máximo de excitación a 405 nm y un máximo de emisión a 510 nm; BD Biosciences, Nueva Jersey) se colocó claramente en un tercer lugar de la superficie interior de un vial y se secó. La tercera composición de colorante polimérico también incluía siete colorantes no poliméricos diferentes: FITC, PE, colorante conjugado PerCP-Cy5.5, colorante conjugado PE-Cy7, APC, colorante conjugado en tándem APC-R700 y APC-H7 (un colorante en tándem APC-cianina). En la Figura 3 se muestra una imagen de las composiciones de colorante polimérico secas en una superficie interior del vial. Como se muestra en la Figura 3, la primera composición de colorante polimérico 32, la segunda composición de colorante polimérico 34 y la tercera composición de colorante polimérico 36, que también incluía siete colorantes no poliméricos, estaban claramente posicionadas en la superficie interior del vial. Se añadió una muestra al vial para producir una composición de colorante reconstituido y se analizó mediante citometría de flujo. Las gráficas de los resultados del ensayo se muestran en la Figura 4 e indican que hubo una minimización en las interacciones colorante-colorante.

Realizaciones

En una realización, la presente descripción proporciona un dispositivo de colorante polimérico multiplexado que tiene un soporte sólido y primera y segunda composiciones de colorante polimérico secas claramente posicionadas con respecto a una superficie del soporte sólido.

En algunas realizaciones, las primera y segunda composiciones de colorante polimérico secas incluyen colorantes poliméricos primero y segundo que difieren entre sí por al menos uno de los máximos de excitación y emisión. Por ejemplo, el primer y segundo colorantes poliméricos pueden ser polímeros conjugados solubles en agua.

En algunas realizaciones, cada una de las primera y segunda composiciones de colorante polimérico secas incluye un estabilizante.

En algunas realizaciones, las primera y segunda composiciones de colorante polimérico secas están posicionadas en ubicaciones separadas sobre la superficie del soporte sólido. En algunas realizaciones, la distancia entre las ubicaciones separadas se encuentra en el intervalo de 0,1 mm a 200 mm.

En algunas realizaciones, las primera y segunda composiciones de colorante polimérico secas están colocadas juntas en la misma ubicación de la superficie del soporte sólido. En ciertos casos, las primera y segunda composiciones de colorante polimérico secas están separadas entre sí por un material distinto del colorante.

En algunas realizaciones, el dispositivo incluye una tercera composición de colorante polimérico seca claramente posicionada con respecto a la superficie del soporte sólido.

En algunas realizaciones, el dispositivo incluye una composición de colorante no polimérico seca.

En algunas realizaciones, el dispositivo incluye tres o más composiciones de colorante polimérico secas distintas y cinco o más composiciones de colorante no polimérico secas distintas.

En algunas realizaciones, la superficie del soporte sólido incluye una superficie interior de un recipiente para líquidos. En algunas realizaciones, el recipiente para líquidos está configurado para contener un volumen en el intervalo de 0,1 ml a 250 ml. En algunas realizaciones, el recipiente para líquidos es un vial. En otras realizaciones, el recipiente para líquidos es un pocillo de una placa multipocillo. En algunas realizaciones, el recipiente para líquidos está sellado. En algunas realizaciones, el soporte sólido es de vidrio. En otros casos, el soporte sólido es un plástico.

En algunas realizaciones, el dispositivo incluye además un conjunto de microesferas patrón marcadas con fluorescencia.

En otra realización, la presente descripción proporciona un método que incluye combinar un volumen de un líquido y un dispositivo de reactivos de manera suficiente para producir una composición de colorante reconstituida. En algunas realizaciones, el dispositivo de reactivos incluye un soporte sólido, y primera y segunda composiciones de colorante polimérico secas claramente posicionadas en relación con una superficie del soporte sólido;

En ciertas realizaciones, el líquido incluye una muestra biológica. En algunas realizaciones, la muestra biológica incluye sangre completa o una fracción de la misma.

En algunas realizaciones, la superficie del soporte sólido es una superficie interior de un recipiente para líquidos y, en estos casos, el método incluye combinar incluye posicionar el volumen de líquido dentro del recipiente para líquidos.

65

En algunas realizaciones, el recipiente para líquidos está sellado y, en estos casos, el método incluye retirar el cierre antes de colocar el volumen de líquido dentro del recipiente para líquidos.

5 En algunas realizaciones, el método también incluye el ensayo de la composición de colorante reconstituida. En algunas realizaciones, el ensayo incluye el análisis por citometría de flujo de la composición de colorante reconstituida.

En algunas realizaciones, el método incluye además el almacenamiento de la composición de colorante reconstituida durante un periodo de tiempo.

10 En algunas realizaciones, el método incluye además el envío de la composición de colorante reconstituida a una ubicación remota.

15 En otra realización, la presente descripción proporciona un método para fabricar un dispositivo de reactivos, en donde el método incluye posicionar claramente primera y segunda composiciones de colorante polimérico secas en relación con una superficie de un soporte sólido.

En algunas realizaciones, el método incluye además el sellado del recipiente para líquidos.

20 En otra realización, la presente descripción proporciona un kit que incluye un dispositivo de reactivos, y un envase configurado para contener el dispositivo de reactivos. En algunas realizaciones, el dispositivo de reactivos incluye un soporte sólido, y primera y segunda composiciones de colorante polimérico secas claramente posicionadas en relación con una superficie del soporte sólido.

25 Además, todos los ejemplos y el lenguaje condicional que se recitan en la presente memoria están destinados principalmente a ayudar al lector a comprender los principios de las realizaciones de la presente descripción, sin limitación a los ejemplos y condiciones que se recitan específicamente.

30 El alcance de las realizaciones de la presente descripción, por lo tanto, no pretende limitarse a las realizaciones ilustrativas mostradas y descritas en la presente memoria. Más bien, el alcance de las realizaciones de la presente descripción se plasma en las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo de reactivos que comprende:
5 un soporte sólido; y
primera y segunda composiciones de colorante polimérico secas claramente posicionadas con
respecto a una superficie del soporte sólido.
- 10 2. El dispositivo según la reivindicación 1, en donde las primera y segunda composiciones de colorante
polimérico secas comprenden colorantes poliméricos primero y segundo que difieren entre sí por al menos
uno de los máximos de excitación y emisión.
- 15 3. El dispositivo según las reivindicaciones 1 o 2, en donde el primer y segundo colorantes poliméricos son
polímeros conjugados hidrosolubles.
4. El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde cada una de la primera y segunda
composiciones de colorante polimérico secas comprenden un estabilizante.
- 20 5. El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde las primera y segunda composiciones
de colorante polimérico secas están posicionadas en ubicaciones separadas sobre la superficie del soporte sólido.
6. El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde las primera y segunda composiciones
de colorante polimérico secas están colocadas juntas en la misma ubicación de la superficie del soporte sólido.
- 25 7. El dispositivo según la reivindicación 6, en donde las primera y segunda composiciones de colorante
polimérico secas están separadas entre sí por un material distinto del colorante.
8. El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el dispositivo comprende una tercera
composición de colorante polimérico seca posicionada claramente en relación con la superficie del soporte sólido.
- 30 9. El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la superficie del soporte sólido
comprende una superficie interna de un recipiente para líquidos.
- 35 10. El dispositivo según la reivindicación 9, en donde el recipiente para líquidos está sellado.
11. El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el dispositivo comprende
además una serie de microesferas estándar marcadas fluorescentemente.
- 40 12. Un método que comprende:
combinar un volumen de un líquido y un dispositivo de reactivos según cualquiera de las reivindicaciones
1 a 11 de manera suficiente para producir una composición de colorante reconstituida.
- 45 13. El método según la reivindicación 12, en donde el líquido comprende una muestra biológica.
14. Un método de fabricación de un dispositivo de reactivos, comprendiendo el método:
50 posicionar claramente las primera y segunda composiciones de colorante polimérico secas en relación con
la superficie de un soporte sólido.
15. Un kit que comprende:
un dispositivo de reactivos según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11; y
55 un envase configurado para contener el dispositivo de reactivos.

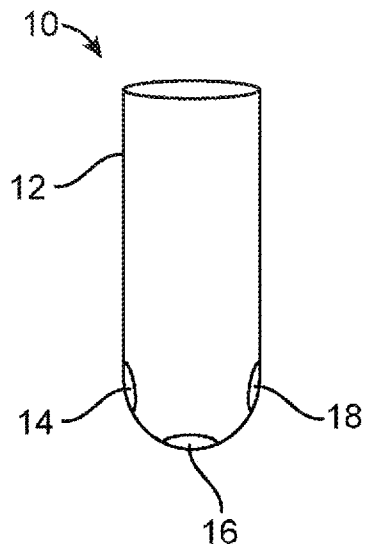
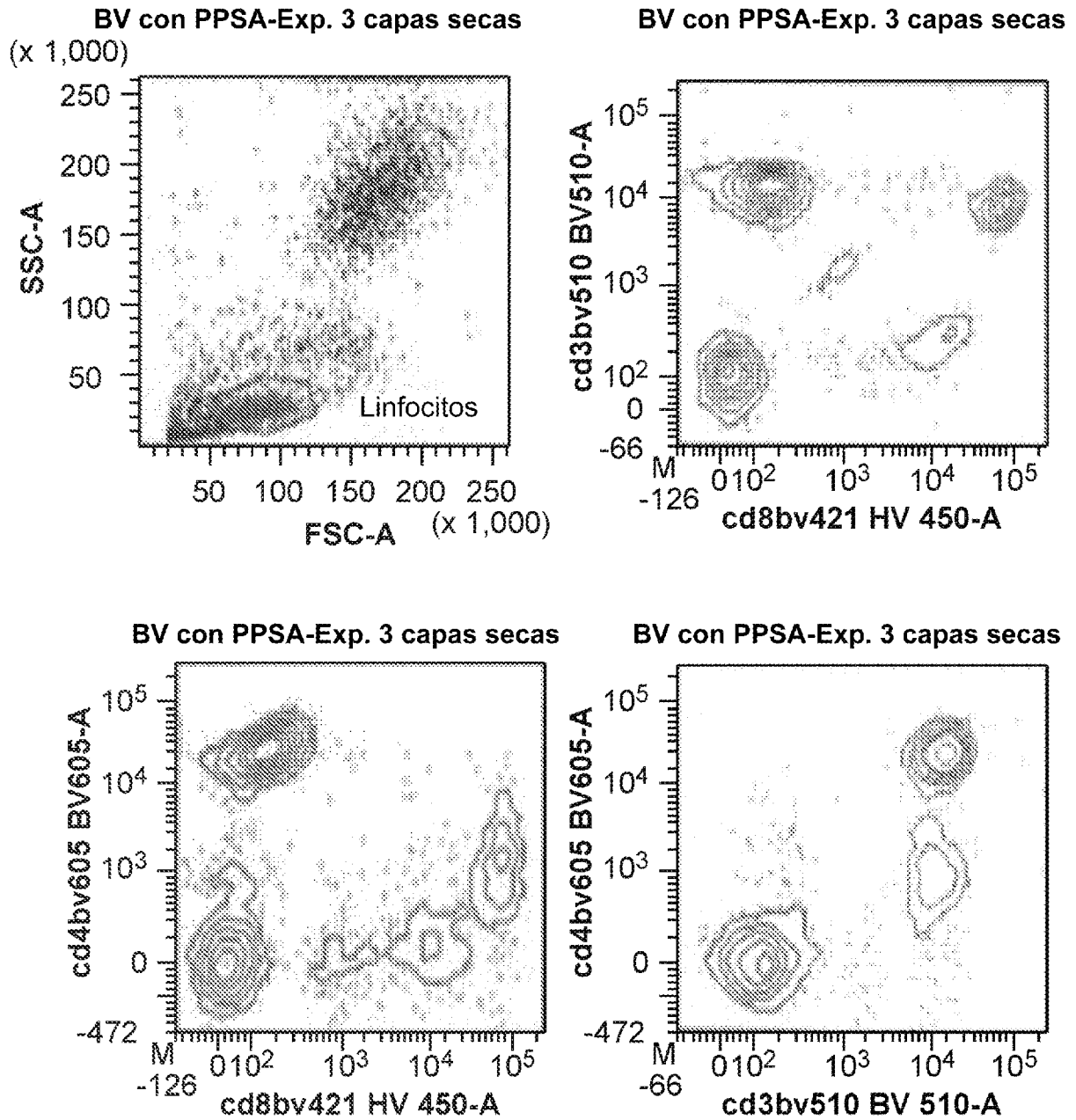


Figura 1



Tubo: Exp. 3 capas secas + Aditivo 1

Población	N.º de eventos	% de precursores	% del total
Todos los eventos	10,000	####	100.0
Linfocitos	1,902	19.0	19.0

Figura 2

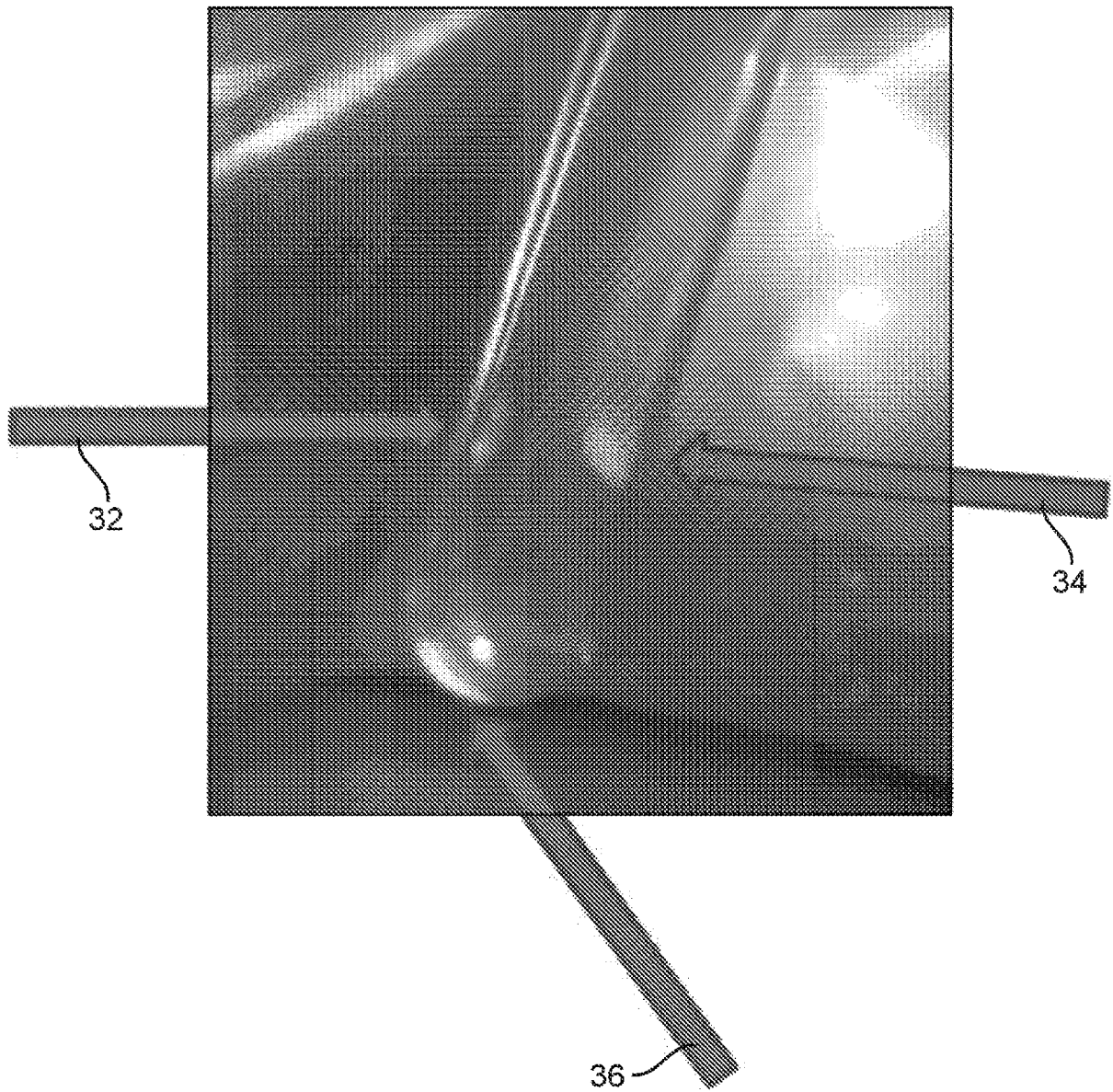


Figura 3

BD FACSDiva 8.0.1

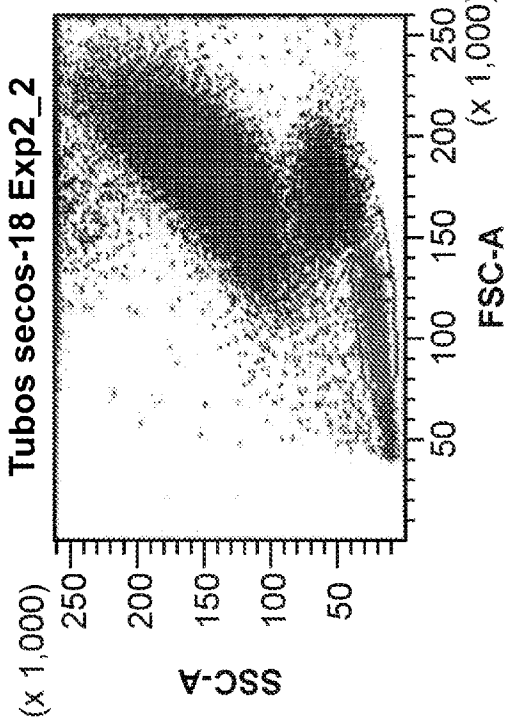
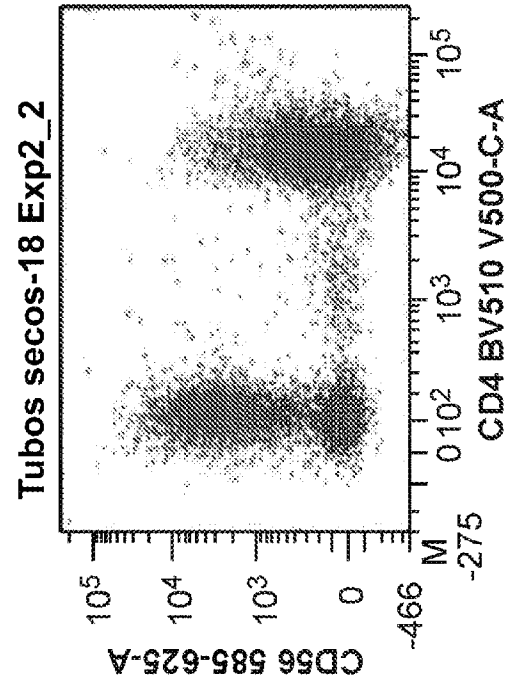
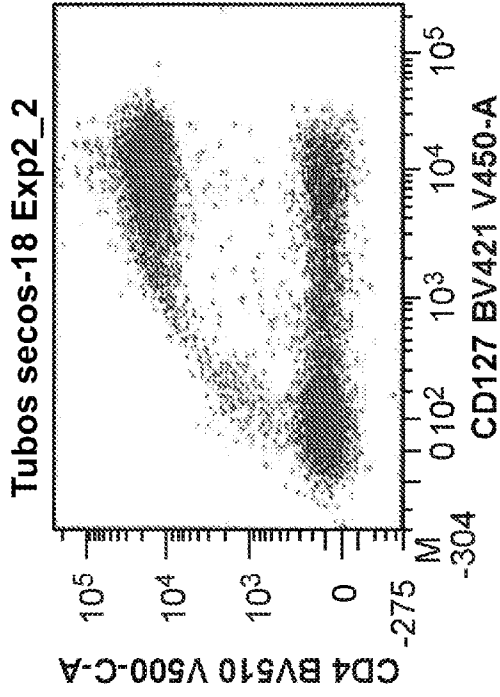
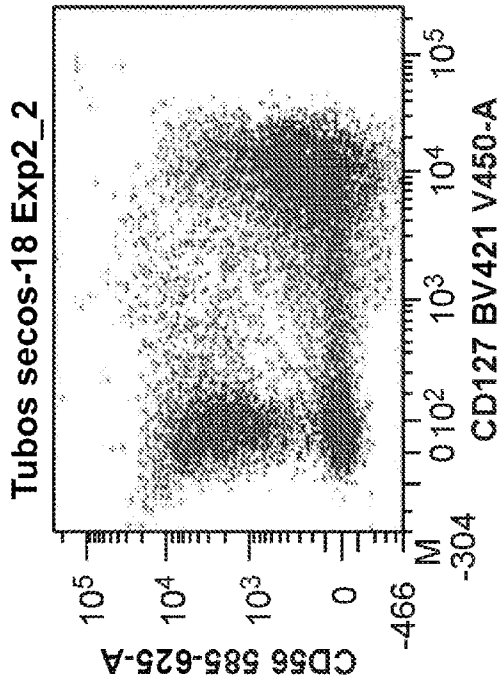


Figura 4