(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 655 397**

(51) Int. CI.:

C08F 220/58 (2006.01)
G01N 33/533 (2006.01)
G01N 33/58 (2006.01)
C08F 220/06 (2006.01)
C08F 220/26 (2006.01)
C08F 220/38 (2006.01)
C09D 177/06 (2006.01)
C09D 179/04 (2006.01)
C09D 181/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.06.2011 PCT/US2011/039825**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **22.12.2011 WO11159548**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.06.2011 E 11796207 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.10.2017 EP 2579846**

(54) Título: **Composición para uso como reactivo de ensayo**

(30) Prioridad:

14.06.2010 US 815007

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.02.2018

(73) Titular/es:

SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC. (100.0%)
1717 Deerfield Road
Deerfield, IL 60015-0778 , US

(72) Inventor/es:

LELE, BHALCHANDRA;
SINGH, PRATAP;
BARTZ, RAPHAEL y
KELLOGG, JASON, A.

(74) Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

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

Composición para uso como reactivo de ensayo

Antecedentes

La presente invención se refiere en general a composiciones útiles como componentes de generación de señales en ensayos.

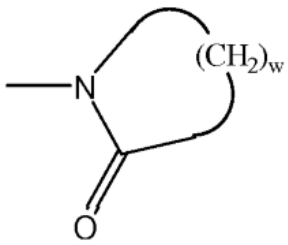
Se ha empleado el recubrimiento de dextrano en reactivos de ensayo en partículas para proporcionar grupos funcionales para la conjugación con unidades estructurales tales como unidades estructurales biológicas (por ejemplo, anticuerpos). Sin embargo, dependiendo de la fuente, existe una variabilidad significativa en la composición química del dextrano. El documento WO 2008/147949 A1 divulga partículas que se pueden usar en un bioensayo. La superficie de las partículas se cubre con un material quimioluminiscente y un tinte aceptor de energía y una sonda biomolecular. En una realización específica, el material quimioluminiscente es un copolímero.

El documento US 5 232 981 divulga polímeros de dispersión que se componen de partículas de látex que se pueden usar para la preparación de conjugados de látex biológicamente activos, adecuados para métodos de determinación serológica o inmunológica.

Existe una necesidad de un recubrimiento que tenga una composición química fiable para usar sobre la superficie de partículas para unir a las partículas unidades estructurales diversas.

Resumen

Una realización de la presente invención es una composición que comprende un soporte sólido que comprende un miembro de un sistema de producción de señal (sps) y un recubrimiento de un copolímero sintético. El copolímero sintético comprende un primer monómero copolimerizado que comprende una unidad estructural pendiente que es -C(O)-A- $(CH_2)_n$-G en la que, A en NR^1 en la que R^1 es H o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono y n es 1 a 10 y en la que G es CHO o $CH(OR^8)_2$ en la que R^8 es alquilo de 1 a 6 átomos de carbono; y un segundo monómero copolimerizado que comprende una unidad estructural de la fórmula

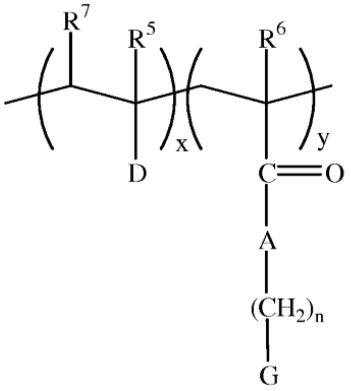


en la que: w es 2-4

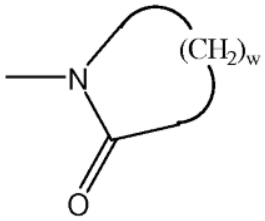
El primer monómero copolimerizado que comprende una unidad estructural pendiente comprende por tanto un aldehído o un derivado de aldehído.

Otra realización de la presente invención es un método para determinar en una muestra, una o ambas, la presencia y la cantidad de un analito. El método comprende proporcionar la muestra y la composición mencionada anteriormente en combinación en un medio, que comprende también un miembro de un par de unión específico (sbp) que se asocia con el soporte sólido, donde el miembro del par de unión específica se une al analito o a un segundo miembro sbp para formar un complejo que se relaciona con la presencia del analito. La combinación se somete a condiciones para la unión del analito a la composición para formar un complejo. El miembro del sistema de producción de señal se activa y la cantidad del complejo se detecta. La cantidad del complejo se relaciona con una o ambas, la presencia y la cantidad de analito en la muestra.

Otra realización de la presente invención es un método para determinar en una muestra una o ambas la presencia y la cantidad de un analito. Se proporciona una combinación en un medio. La combinación comprende la muestra y una composición que comprende una partícula que comprende un miembro sps, un miembro sbp que se une al analito o a un segundo miembro sbp para formar un complejo que se relaciona con la presencia del analito y un recubrimiento de un copolímero. El copolímero tiene la fórmula:



en la que: D es



en la que: w es 2-4

en la que:

A es RN^1 en la que R^1 es H o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono;

n es 1 a 10

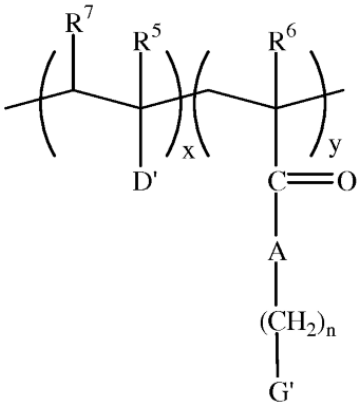
G es CHO; $CH(OR^8)_2$ en la que R^8 es alquilo de 1 a 6 átomos de carbono;

R^5, R^6 y R^7 son independientemente H o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono; y

x e y son independientemente 1 a 100

La combinación se somete a condiciones para la unión del miembro sbp al analito o al segundo miembro sbp para formar un complejo. El miembro sps se activa y la cantidad del complejo se detecta. La cantidad del complejo se relaciona con, una o ambas, la presencia y la cantidad de analito en la muestra.

Otra realización de la presente invención es un copolímero de la fórmula:



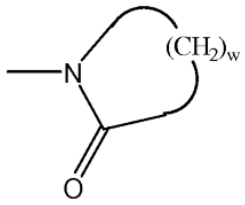
en la que:

A es RN^1 en la que R^1 es H o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono;

n es 1 a 10

G' es CHO; $CH(OR^8)_2$ en la que R^8 es alquilo de 1 a 6 átomos de carbono;

D' es



en la que: w es 2-4; R^5, R^6 y R^7 son independientemente H o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono; y

x e y son independientemente 1 a aproximadamente 100

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un diagrama esquemático de una síntesis de MAMDMA.

La Figura 2 es una representación tabular de estructuras de realizaciones de copolímeros de acuerdo con las presentes composiciones después de la hidrólisis de un grupo protector de acetal. La Figura 2 incluye también las relaciones de transmisión de monómeros hidrófilos que se emplearon en la síntesis de los copolímeros que se representan.

Descripción detallada de realizaciones específicas

Composiciones

En algunas realizaciones, un copolímero de las presentes composiciones es un copolímero aleatorio en el que una de las unidades monoméricas del copolímero comprende funcionalidades reactivas para la conjugación con moléculas de interés tales como, por ejemplo, partículas y miembros sbp, y otra de las unidades monoméricas del copolímero funciona haciendo que el copolímero resultante sea hidrófilo. En algunas realizaciones, el copolímero comprende dos unidades monoméricas diferentes, o tres unidades monoméricas diferentes, o cuatro unidades monoméricas diferentes, o cinco unidades monoméricas diferentes, por ejemplo. En algunas realizaciones, una primera unidad de monómero comprende una funcionalidad reactiva o un derivado de una funcionalidad reactiva. Una segunda unidad monomérica comprende una unidad estructural hidrófila. En algunas realizaciones se pueden emplear monómeros adicionales (terceros, cuartos y quintos monómeros, por ejemplo) que comprenden una funcionalidad reactiva o un derivado de una funcionalidad reactiva que es diferente de la funcionalidad reactiva o derivado de la funcionalidad reactiva de otro de los monómeros o que comprende una unidad estructural hidrófila que es diferente de la unidad estructural hidrófila de otro monómero.

En un copolímero aleatorio, la distribución de los monómeros copolimerizados puede ser tal que en cualquier punto de la cadena polimérica, un primer monómero copolimerizado y un segundo monómero copolimerizado se puedan alternar o se puedan repetir a diferencia de los copolímeros en bloque.

En algunas realizaciones, el número de cada monómero copolimerizado diferente en el copolímero se controla durante la preparación del polímero funcionalizado controlando la concentración molar de las unidades monoméricas que se emplean en la preparación del polímero. El número de cada uno de los monómeros copolimerizados (x e y en las fórmulas a continuación) se controla por tanto en el copolímero final funcionalizado. El copolímero se puede adaptar, por ejemplo, a uno o más, de un soporte particular, a composiciones que comprenden tales soportes y al uso de dicha composición.

El término "monómero" o "unidad monomérica" significa una molécula capaz de experimentar polimerización para formar un polímero; la molécula comprende una funcionalidad polimerizable. El número de unidades monoméricas depende de uno o más del número de átomos en la cadena de la unidad monomérica y la composición de la unidad monomérica, por ejemplo.

Como se mencionó anteriormente, las composiciones para uso en la preparación de reactivos de ensayo o para usar como reactivos de ensayo comprenden un soporte sólido que comprende un miembro sps y un recubrimiento de un copolímero sintético. El copolímero sintético comprende al menos dos monómeros copolimerizados para formar el polímero. Uno de los monómeros copolimerizados comprende un esqueleto de polímero y unidades estructurales pendientes que comprenden al menos una funcionalidad reactiva o al menos un derivado de una funcionalidad reactiva. El otro de los monómeros copolimerizados comprende una unidad estructural hidrófila que comprende al menos 1 átomo de carbono y al menos 2 heteroátomos. En algunas realizaciones, el copolímero comprende un

esqueleto polietilénico que comprende la unidad estructural pendiente que comprende una funcionalidad reactiva o una funcionalidad reactiva que se deriva y la unidad estructural pendiente que comprende al menos 1 átomo de carbono y al menos 2 heteroátomos, o al menos 4 átomos de carbono y al menos 3 heteroátomos, o al menos 4 átomos de carbono y al menos 2 heteroátomos, o al menos 8 átomos de carbono y al menos 7 heteroátomos. Los monómeros copolimerizados comprenden un esqueleto polimérico que comprende una cadena de átomos de carbono, desde la cual penden de la cadena una o más unidades estructurales que contienen funcionalidad reactiva o derivados de unidades estructurales que contienen funcionalidad reactiva y una o más de las unidades estructurales hidrófilas penden de la cadena del esqueleto del copolímero.

En algunas realizaciones, el otro de los monómeros copolimerizados que comprende una unidad estructural hidrófila comprende de 1 a aproximadamente 15 átomos de carbono y de 1 a aproximadamente 10 heteroátomos. Los monómeros copolimerizados comprenden un esqueleto polimérico que comprende una cadena de átomos de carbono, desde la cual penden de la cadena una o más unidades estructurales que contienen funcionalidad reactiva o derivados de unidades estructurales que contienen funcionalidad reactiva y una o más de las unidades estructurales hidrófilas penden de la cadena del esqueleto del copolímero.

El número de átomos de carbono en la cadena del esqueleto del copolímero depende del número y la naturaleza de cada una de las unidades monoméricas copolimerizadas, tales como, por ejemplo, el número de átomos de carbono en la funcionalidad polimerizable de las unidades monoméricas, y el peso del copolímero, por ejemplo. El número de átomos de carbono en la funcionalidad polimerizable de la unidad monomérica puede ser de 2 a aproximadamente 20, o 2 a aproximadamente 15, o 2 a aproximadamente 10, o 2 a aproximadamente 5, o 2 a aproximadamente 4, o 2 a 3, o 3 a aproximadamente 20, o 3 a aproximadamente 15, o 3 a aproximadamente 10, o 3 a aproximadamente 5, o 3 a 4, por ejemplo. El número de átomos de carbono en el monómero que comprende una unidad estructural o derivado que contiene funcionalidad reactiva pendiente de una unidad estructural que contiene funcionalidad reactiva (que se refiere aquí arbitrariamente como el primer monómero copolimerizado) es al menos aproximadamente 3, o al menos aproximadamente 4, o a al menos aproximadamente 5, o al menos aproximadamente 6, o al menos aproximadamente 7, o al menos aproximadamente 8, o al menos aproximadamente 9, o al menos aproximadamente 10 y puede estar en el intervalo de aproximadamente 3 a aproximadamente 15, o aproximadamente 3 a aproximadamente 10, o aproximadamente 3 a aproximadamente 9, o aproximadamente 3 a aproximadamente 8, o aproximadamente 3 a aproximadamente 7, o aproximadamente 3 a aproximadamente 6, o aproximadamente 3 a aproximadamente 5, o 3 a 4. El número del primer monómero copolimerizado en el copolímero depende de una o más de las necesidades de unión a un miembro sbp y la necesidad de unirse a la superficie de un soporte. El número de los primeros monómeros copolimerizados en el copolímero es 1 a aproximadamente 1.000, o 1 a aproximadamente 750, o 1 a aproximadamente 500, o 1 a aproximadamente 250, o 1 a aproximadamente 100, o 1 a aproximadamente 50, o 2 a aproximadamente 1,000, o 2 a aproximadamente 750, o 2 a aproximadamente 500, o 2 a aproximadamente 250, o 2 a aproximadamente 100, o 2 a aproximadamente 50, o 5 a aproximadamente 1,000, o 5 a aproximadamente 750, o 5 a aproximadamente 500, o 5 a aproximadamente 250, o 5 a aproximadamente 100, o 5 a aproximadamente 50, o 10 a aproximadamente 1,000, o 10 a aproximadamente 750, o 10 a aproximadamente 500, o 10 a aproximadamente 250, o 10 a aproximadamente 100, o 10 a aproximadamente 50, o de 100 a aproximadamente 1.000, o de 100 a aproximadamente 750, o de 100 a aproximadamente 500, o de 100 a aproximadamente 250, por ejemplo.

El término "funcionalidad polimerizable" se refiere a una porción de una unidad monomérica que reacciona con una porción de otra molécula del monómero o una porción de una molécula de un monómero diferente tal como, por ejemplo, una unidad estructural que comprende uno o más enlaces dobles o triples tales como, por ejemplo, grupos alilo, grupos vinilo, grupos acrilato, grupos metacrilato, grupos acrilamida y grupos metacrilamida.

El término "funcionalidad reactiva" es una funcionalidad que puede reaccionar con una funcionalidad reactiva correspondiente en otra molécula para formar un enlace covalente. Tales funcionalidades reactivas incluyen, a modo de ilustración y sin limitación, aldehído, carboxi, amino, imino, sulfhidrilo e hidroxi, por ejemplo. En algunas realizaciones, la funcionalidad reactiva es un aldehído y el primer monómero copolimerizado comprende una unidad estructural aldehído.

El término "derivado de una funcionalidad reactiva" significa una unidad estructural que se forma mediante la reacción de una funcionalidad reactiva con otra unidad estructural que comprende una funcionalidad reactiva con la funcionalidad reactiva que forma de ese modo un enlace covalente que une dos moléculas para formar el derivado. El derivado de una funcionalidad reactiva puede comprender un acetal, un carboxiéster, una amida, un éter o un tioéter, por ejemplo. En algunas realizaciones, el derivado de una funcionalidad reactiva puede ser un producto de reacción de una funcionalidad reactiva con una funcionalidad reactiva de un miembro de un par de unión específica (miembro sbp) por lo que el miembro sbp se une covalentemente al copolímero. Las funcionalidades en el miembro sbp se pueden presentar naturalmente en el miembro sbp o se pueden introducir sintéticamente en el miembro sbp. Tales funcionalidades incluyen, por ejemplo, grupos amina, grupos hidroxilo, grupos sulfhidrilo y grupos carboxilo. En algunas realizaciones, el derivado de una funcionalidad reactiva puede ser un producto de reacción de una funcionalidad reactiva con una funcionalidad reactiva de una partícula, por lo que el copolímero se une covalentemente a la partícula proporcionando de este modo un recubrimiento del copolímero sobre la superficie de la partícula. Las funcionalidades en la partícula se pueden presentar de forma natural en la partícula o se pueden introducir sintéticamente en la superficie de la partícula. Tales funcionalidades incluyen grupos amina, grupos

hidroxilo, grupos azida y grupos carboxilo, por ejemplo. En algunas realizaciones, el derivado de una funcionalidad reactiva es un derivado de aldehído.

El término "derivado de aldehído" significa una unidad estructural que se forma mediante la reacción de un grupo aldehído con otra unidad estructural, que comprende una funcionalidad reactiva, con un grupo aldehído. El derivado de aldehído puede ser un acetal que resulta de la reacción de dos funcionalidades alcohol con un oxígeno de carbonilo de un aldehído. El derivado de aldehído puede ser un producto de reacción de un grupo aldehído con un miembro de un par de unión específico (miembro sbp) mediante la reacción del aldehído con una funcionalidad del miembro sbp. Las funcionalidades en el miembro sbp se pueden presentar naturalmente en el miembro sbp o se pueden introducir sintéticamente en el miembro sbp. Tales funcionalidades incluyen, por ejemplo, grupos amina. La reacción entre un grupo aldehído y un miembro sbp puede ser por medio de, por ejemplo, la formación de base de Schiff entre una alquilamina o una arilamina del miembro sbp y el grupo aldehído. La reacción puede ser por medio de aminación reductiva que implica el grupo aldehído y un grupo amino del miembro sbp. En otras realizaciones, los derivados de aldehído incluyen, por ejemplo, compuestos de adición de acetales y bisulfito. En algunas realizaciones, la funcionalidad de aldehído puede reaccionar con un grupo amina correspondiente en la superficie de una partícula, por lo que la partícula se une covalentemente al copolímero proporcionando de este modo un recubrimiento del copolímero sobre la superficie de la partícula. Las funcionalidades en la partícula se pueden presentar de forma natural en la partícula o se pueden introducir sintéticamente en la superficie de la partícula.

El otro de los monómeros copolimerizados (monómero hidrófilo o que se refiere aquí, de otra manera, arbitrariamente como el segundo monómero copolimerizado) del copolímero comprende una funcionalidad polimerizable que comprende al menos 1 átomo de carbono y al menos 2 heteroátomos, o al menos 1 átomo de carbono y al menos 3 heteroátomos, o al menos 1 átomo de carbono y al menos 4 átomos de carbono, o al menos 2 átomos de carbono y al menos 2 heteroátomos, o al menos 2 átomos de carbono y al menos 3 heteroátomos, o al menos 2 átomos de carbono y al menos 4 heteroátomos, o al menos 3 átomos de carbono y al menos 3 heteroátomos, o al menos 3 átomos de carbono y al menos 4 heteroátomos, o al menos 4 átomos de carbono y al menos 3 heteroátomos, o al menos 4 átomos de carbono y al menos 4 heteroátomos, por ejemplo. Como se mencionó anteriormente, los monómeros copolimerizados forman un esqueleto polimérico que comprende una cadena de átomos de carbono, de la cual dependen de la cadena una o más unidades estructurales pendientes. El número de átomos de carbono en la funcionalidad polimerizable de la segunda unidad monomérica puede ser de 2 a aproximadamente 20, o 2 a aproximadamente 15, o 2 a aproximadamente 10, o 2 a aproximadamente 5, o 2 a aproximadamente 4, o 2 a 3, o 3 a aproximadamente 20, o 3 a aproximadamente 15, o 3 a aproximadamente 10, o 3 a aproximadamente 5, o 3 a 4, por ejemplo.

En algunas realizaciones, el segundo monómero copolimerizado del copolímero comprende una funcionalidad polimerizable y una unidad estructural pendiente que comprende de 1 a aproximadamente 15 átomos de carbono y de 1 a aproximadamente 10 heteroátomos, o 1 a aproximadamente 10 átomos de carbono y de 1 a aproximadamente 10 heteroátomos , o de 1 a aproximadamente 10 átomos de carbono y de 1 a aproximadamente 8 heteroátomos, o de 1 a aproximadamente 10 átomos de carbono y de 1 a aproximadamente 6 heteroátomos, o de 1 a aproximadamente 10 átomos de carbono y de 1 a aproximadamente 5 heteroátomos, o de 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono y de 1 a aproximadamente 8 heteroátomos, o de 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono y de 1 a aproximadamente 7 heteroátomos, o de 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono y de 1 a aproximadamente 7 heteroátomos, o de 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono y de 1 a aproximadamente 6 heteroátomos, o de 4 a aproximadamente 8 átomos de carbono y de 3 a aproximadamente 7 heteroátomos, por ejemplo.

El número de átomos de carbono de la unidad estructural hidrófila pendiente es al menos 1, o al menos aproximadamente 2, o al menos aproximadamente 3, o al menos aproximadamente 4, o al menos aproximadamente 5, o al menos aproximadamente 10, o al menos aproximadamente 20, o al menos aproximadamente 40, o al menos aproximadamente 60, o al menos aproximadamente 80, o al menos aproximadamente 100, o al menos aproximadamente 150, o al menos aproximadamente 200, o al menos aproximadamente 300, o al menos aproximadamente 400, y no más de aproximadamente 2,500, o no más de aproximadamente 2,000, o no más de aproximadamente 1,500, o no más de aproximadamente 1,100, por ejemplo. En algunas realizaciones, el número de átomos de carbono del resto colgante está en el intervalo de 1 a aproximadamente 2.500, o de 1 a aproximadamente 2.000, o de 1 a aproximadamente 1.500, o de 1 a aproximadamente 1.200, o de 1 a aproximadamente 1.100, o de 1 a aproximadamente 1000, o 1 a aproximadamente 750, o 1 a aproximadamente 500, o 1 a aproximadamente 400, o 1 a aproximadamente 300, o 1 a aproximadamente 200, o 1 a aproximadamente 100, o 1 a aproximadamente 80, o 1 a aproximadamente 60, o 1 a aproximadamente 40, o 1 a aproximadamente 20, o 1 a aproximadamente 10, o 2 a aproximadamente 2.500, o 2 a aproximadamente 2.000, o 2 a aproximadamente 1.500, o 2 a aproximadamente 1.200, o 2 a aproximadamente 1.100, o 2 a aproximadamente 1,000, o 2 a aproximadamente 750, o 2 a aproximadamente 500, o 2 a aproximadamente 400, o 2 a aproximadamente 300, o 2 a aproximadamente 200, o 2 a aproximadamente 100, o 2 a aproximadamente 80, o 2 a aproximadamente 60, o 2 a aproximadamente 40, o 2 a aproximadamente 20, o 2 a aproximadamente 10, o 3 a aproximadamente 2.500, o 3 a aproximadamente 2.000, o 3 a aproximadamente 1.500, o 3 a aproximadamente 1.200, o 3 a aproximadamente 1.100, o 3 a aproximadamente 1,000, o 3 a aproximadamente 750, o 3 a aproximadamente 500, o 3 a aproximadamente 400, o 3 a aproximadamente 300, o 3 a aproximadamente 200, o 3 a aproximadamente 100, o 3 a aproximadamente 8 0, o 3 a aproximadamente 60, o 3 a aproximadamente 40, o 3 a aproximadamente 20, o 3 a

aproximadamente 10, o 4 a aproximadamente 2.500, o 4 a aproximadamente 2.000, o 4 a aproximadamente 1.500, o 4 a aproximadamente 1.200, o 4 a aproximadamente 1.100, o 4 a aproximadamente 1.000, o 4 a aproximadamente 750, o 4 a aproximadamente 500, o 4 a aproximadamente 400, o 4 a aproximadamente 300, o 4 a aproximadamente 200, o 4 a aproximadamente 100, o 4 a aproximadamente 80, o 4 a aproximadamente 60, o 4 a aproximadamente 40, o 4 a aproximadamente 20, o 4 a aproximadamente 10, o 5 a aproximadamente 2.500, o 5 a aproximadamente 2.000, o 5 a aproximadamente 1.500, o 5 a aproximadamente 1.200, o 5 a aproximadamente 1.100, o 5 a aproximadamente 1.000, o 5 a aproximadamente 750, o 5 a aproximadamente 500, o 5 a aproximadamente 400, o 5 a aproximadamente 300, o 5 a aproximadamente 200, o 5 a aproximadamente 100, o 5 a aproximadamente 80, o 5 a aproximadamente 60, o 5 a aproximadamente 40, o 5 a aproximadamente 20, o 5 a aproximadamente 10, por ejemplo.

El número de moléculas del segundo monómero copolimerizado en el copolímero es 1 a aproximadamente 1.000, o 1 a aproximadamente 750, o 1 a aproximadamente 500, o 1 a aproximadamente 250, o 1 a aproximadamente 100, o 1 a aproximadamente 50, o 2 a aproximadamente 1,000, o 2 a aproximadamente 750, o 2 a aproximadamente 500, o 2 a aproximadamente 250, o 2 a aproximadamente 100, o 2 a aproximadamente 50, o 5 a aproximadamente 1,000, o 5 a aproximadamente 750, o 5 a aproximadamente 500, o 5 a aproximadamente 250, o 5 a aproximadamente 100, o 5 a aproximadamente 50, o 10 a aproximadamente 1,000, o 10 a aproximadamente 750, o 10 a aproximadamente 500, o 10 a aproximadamente 250, o 10 a aproximadamente 100, o de 10 a aproximadamente 50, o de 100 a aproximadamente 1.000, o de 100 a aproximadamente 750, o de 100 a aproximadamente 500, o de 100 a aproximadamente 250, por ejemplo.

El número de heteroátomos de la unidad estructural hidrófila pendiente del segundo monómero copolimerizado que comprende al menos 1 átomo de carbono y al menos 2 heteroátomos es aquel suficiente para hacer que el copolímero sea hidrófilo. El término "hidrófilo" se refiere a una propiedad de una molécula que es polar y, por tanto, prefiere moléculas neutras o moléculas polares y prefiere disolventes polares. Las moléculas hidrófilas tienen una afinidad por otras unidades estructurales hidrófilas en comparación con las unidades estructurales hidrófobas. El número de heteroátomos depende de factores tales como el número de átomos de carbono en la unidad estructural pendiente, la naturaleza del soporte y la naturaleza de un derivado de aldehído, si se presenta, por ejemplo.

El número de heteroátomos de la unidad estructural hidrófila pendiente es al menos aproximadamente 2, o al menos aproximadamente 3, o al menos aproximadamente 4, o al menos aproximadamente 5, o al menos aproximadamente 6, o al menos aproximadamente 7, o al menos aproximadamente, o al menos aproximadamente 8, o al menos aproximadamente 9, o al menos aproximadamente 10, o al menos aproximadamente 20, o al menos aproximadamente 30, o al menos aproximadamente 40, o al menos aproximadamente 50, o al menos aproximadamente 60, o en al menos aproximadamente 70, o al menos aproximadamente 80, o al menos aproximadamente 90, o al menos aproximadamente 100, o al menos aproximadamente 150, y no más de aproximadamente 1,500, o no más de aproximadamente 1,200, o no más de aproximadamente 1,100, o no más de 1,000, por ejemplo. En algunas realizaciones, el número de heteroátomos está en el intervalo de 2 a aproximadamente 1.500, o de 2 a aproximadamente 1.250, o de 2 a aproximadamente 1.000, o de 2 a aproximadamente 750, o de 2 a aproximadamente 500, o de aproximadamente 2 a aproximadamente 250, o 2 a aproximadamente 100, o 2 a aproximadamente 80, o 2 a aproximadamente 60, o 2 a aproximadamente 40, o 2 a aproximadamente 20, o 2 a aproximadamente 10, o 3 a aproximadamente 1,500, o 3 a aproximadamente 1,250, o 3 a aproximadamente 1.000, o 3 a aproximadamente 750, o 3 a aproximadamente 500, o aproximadamente 3 a aproximadamente 250, o 3 a aproximadamente 100, o 3 a aproximadamente 80, o 3 a aproximadamente 60, o 3 a aproximadamente 40, o 3 a aproximadamente 20 , o 3 a aproximadamente 10, o 5 a aproximadamente 1.500, o 5 a aproximadamente 1.250, o 5 a aproximadamente 1.000, o 5 a aproximadamente 750, o 5 a aproximadamente 500, o aproximadamente 5 a aproximadamente 250, o 5 a aproximadamente 100, o 5 a aproximadamente 80, o 5 a aproximadamente 60, o 5 a aproximadamente 40, o 5 a aproximadamente 20, o 5 a aproximadamente 10, o 7 a aproximadamente 1,500, o 7 a aproximadamente 1,250, o 7 a aproximadamente 1,000, o 7 a aproximadamente 750, o 7 a aproximadamente 500, o aproximadamente 7 a aproximadamente 250, o 7 a aproximadamente 100, o 7 a aproximadamente 80, o 7 a aproximadamente 60, o 7 a aproximadamente 40, o 7 a aproximadamente 20, o 7 a como 10, por ejemplo.

La hidrofilicidad del copolímero se puede controlar mediante el número de heteroátomos (y grupos funcionales que comprenden tales heteroátomos) en el copolímero. El número de heteroátomos en el copolímero depende del número de heteroátomos en cada uno del segundo monómero copolimerizado y también del número de monómeros copolimerizados que comprenden los heteroátomos en comparación con el número de monómeros copolimerizados que comprenden una unidad estructural pendiente que comprende una funcionalidad reactiva o un derivado de una funcionalidad reactiva. En algunas realizaciones, hay 1 heteroátomo por aproximadamente 3 átomos de carbono, o 1 heteroátomo por aproximadamente 6 átomos de carbono, o 1 heteroátomo por aproximadamente 10 átomos de carbono, o 1 heteroátomo por aproximadamente 12 átomos de carbono, o 1 heteroátomo por aproximadamente 15 átomos de carbono, o 2 heteroátomos por 1 átomo de carbono, o 2 heteroátomos por aproximadamente 2 átomos de carbono, o 2 heteroátomos por aproximadamente 3 átomos de carbono, o 2 heteroátomos por aproximadamente 4 átomos de carbono, o 2 heteroátomos por aproximadamente 6 átomos de carbono, o 2 heteroátomos por aproximadamente 10 carbonos átomos, o 2 heteroátomos por aproximadamente 12 átomos de carbono, o 2 heteroátomos por aproximadamente 15 átomos de carbono, o 3 heteroátomos por aproximadamente 4 átomos de carbono, o 3 heteroátomos por aproximadamente 6 átomos de carbono, o 3 heteroátomos por aproximadamente 10

átomos de carbono, o 3 heteroátomos por aproximadamente 12 átomos de carbono, o 3 heteroátomos por aproximadamente 15 átomos de carbono, o 4 heteroátomos por aproximadamente 4 átomos de carbono, o 4 heteroátomos por aproximadamente 6 átomos de carbono, o 4 heteroátomos por aproximadamente 10 átomos de carbono, o 4 heteroátomos por aproximadamente 12 átomos de carbono , o 4 heteroátomos por alrededor de 15 átomos de carbono, o 5 heteroátomos por aproximadamente 4 átomos de carbono, o 5 heteroátomos por aproximadamente 6 átomos de carbono, o 5 heteroátomos por aproximadamente 10 átomos de carbono, o 5 heteroátomos por aproximadamente 12 átomos de carbono, o 5 heteroátomos por aproximadamente 15 átomos de carbono o 6 heteroátomos por aproximadamente 5 átomos de carbono, o 6 heteroátomos por aproximadamente 6 átomos de carbono, o 6 heteroátomos por aproximadamente 10 átomos de carbono, o 6 heteroátomos por aproximadamente 12 átomos de carbono, o 6 heteroátomos por aproximadamente 15 átomos de carbono, o 7 heteroátomos por aproximadamente 7 carbonos átomos, o 7 heteroátomos por aproximadamente 8 átomos de carbono, o 7 heteroátomos por aproximadamente 10 átomos de carbono, o 7 heteroátomos por aproximadamente 12 átomos de carbono, o 7 heteroátomos por aproximadamente 15 átomos de carbono, por ejemplo.

En algunas realizaciones, la unidad estructural pendiente del segundo monómero polimerizado (monómero hidrófilo) puede comprender al menos 1 átomo de carbono y al menos 2 heteroátomos, o al menos 1 átomo de carbono y al menos 3 heteroátomos, o al menos 1 átomo de carbono y al menos 4 átomos de carbono, o al menos 2 átomos de carbono y al menos 2 heteroátomos, o al menos 2 átomos de carbono y al menos 3 heteroátomos, o al menos 2 átomos de carbono y al menos 4 heteroátomos, o al menos 3 átomos de carbono y al menos 3 heteroátomos , o al menos 3 átomos de carbono y al menos 4 heteroátomos, o al menos 4 átomos de carbono y al menos 2 heteroátomos, o al menos 4 átomos de carbono y al menos 3 heteroátomos, o al menos 4 átomos de carbono y al menos 4 heteroátomos, o al menos 4 átomos de carbono y al menos 5 heteroátomos, o al menos 5 átomos de carbono y al menos 2 heteroátomos, o al menos 5 átomos de carbono y al menos 3 heteroátomos, o al menos 5 átomos de carbono y al menos 4 heteroátomos, o al menos 5 átomos de carbono y al menos 5 heteroátomos, o al menos 5 átomos de carbbono y al menos 6 heteroátomos, o al menos 6 átomos de carbono y al menos 2 heteroátomos, o al menos 6 átomos de carbono y al menos 3 heteroátomos, o al menos 6 átomos de carbono y al menos 4 heteroátomos, o al menos 6 átomos de carbono y al menos 5 heteroátomos, o al menos 6 átomos de carbono y al menos 6 heteroátomos, o al menos 6 átomos de carbono y al menos 7 heteroátomos, o al menos 7 átomos de carbono y al menos 2 heteroátomos, o al menos 7 átomos de carbono y al menos 3 heteroátomos, o al menos 7 átomos de carbono y al menos 4 heteroátomos, o al menos 7 átomos de carbono y al menos 5 heteroátomos, o al menos 7 átomos de carbono y al menos 6 heteroátomos, o al menos 7 átomos de carbono y al menos 7 heteroátomos, o al menos 7 átomos de carbono y al menos 8 heteroátomos, o al menos 8 átomos de carbono y al menos 2 heteroátomos, o al menos 8 átomos de carbono y al menos 3 heteroátomos, o al menos 8 átomos de carbono y al menos 4 heteroátomos, o al menos 8 átomos de carbono y al menos 5 heteroátomos, o al menos 8 átomos de carbono y al menos 6 heteroátomos, o al menos 8 átomos de carbono y al menos 7 heteroátomos, o al menos 8 átomos de carbono y al menos 8 heteroátomos, o al menos 8 átomos de carbono y al menos 9 heteroátomos, por ejemplo.

El número de monómeros copolimerizados que comprenden los heteroátomos en comparación con el número de monómeros polimerizados que comprenden una unidad estructural pendiente que comprende una funcionalidad reactiva o un derivado de una funcionalidad reactiva se puede controlar mediante la relación de transmisión de los monómeros durante la polimerización. Por consiguiente, durante una polimerización, la relación de transmisión del monómero que comprende la unidad estructural pendiente que comprende una funcionalidad reactiva o un derivado de una funcionalidad reactiva (primer monómero copolimerizable) se puede aumentar sobre la del monómero hidrófilo (segundo monómero copolimerizable). La relación del segundo monómero copolimerizable al primer monómero copolimerizable durante una polimerización puede ser 1: 1, o 1: 1.5, o 1: 2, o 1: 2.5, o 1: 3, o 1: 3.5 o 1: 4, o 1: 4.5, o 1: 5, o 1: 5.5, o 1: 6, por ejemplo. Esta relación de transmisión controla el valor de x e y en las fórmulas a continuación. Además, la relación del segundo monómero copolimerizable al primer monómero copolimerizable se puede ajustar para controlar la cantidad de señal que se obtiene a partir de un soporte sólido que comprende un miembro de un sistema de producción de señal (sps) y un recubrimiento del copolímero sintético. Al tener más del primer monómero copolimerizable que comprende una unidad estructural pendiente que comprende una funcionalidad reactiva, se puede obtener una mayor cantidad de funcionalidad reactiva que se deriva sobre el soporte sólido. De esta manera, se pueden equilibrar las propiedades hidrófilas del soporte sólido resultante con el copolímero sintético recubierto y el número de funcionalidades reactivas que se derivan para acomodar una amplia variedad de ensayos y sistemas de producción de señales.

Los heteroátomos de la unidad estructural hidrófila pendiente incluyen, por ejemplo, oxígeno, azufre, nitrógeno y fósforo, y combinaciones de oxígeno, azufre, nitrógeno y fósforo. Los heteroátomos se pueden presentar en combinación con otros, entre sí o con otros átomos tales como, por ejemplo, uno o más de hidrógeno y carbono, en forma de uno o más grupos hidrófilos. En algunas realizaciones, el oxígeno se puede presentar como oxo u oxi que se une a uno o más de hidrógeno, carbono, azufre, nitrógeno y fósforo; el nitrógeno se puede unir a uno o más de hidrógeno, carbono, oxígeno, azufre y fósforo tal como, por ejemplo, un grupo azo, ciano, isociano, nitro, nitroso, amido o amino; el azufre es análogo al oxígeno como se discutió anteriormente; el fósforo se puede unir a uno o más de hidrógeno, carbono, azufre, oxígeno y nitrógeno, tal como, por ejemplo, un grupo fosfonato o fosfato mono o diéster.

El número de grupos hidrófilos en la unidad estructural hidrófila pendiente puede ser 2 a aproximadamente 1.500, o 2 a aproximadamente 1.250, o 2 a aproximadamente 1.000, o 2 a aproximadamente 750, o 2 a aproximadamente 500, o 2 a aproximadamente 250, o 2 a aproximadamente 125, o 2 a aproximadamente 100, o 2 a aproximadamente 80, o 2 a aproximadamente 60, o 2 a aproximadamente 40, o 2 a aproximadamente 20, o 2 a aproximadamente 10, o 2 a aproximadamente 5, o 3 a aproximadamente 1,500 , o 3 a aproximadamente 1.250, o 3 a aproximadamente 1.000, o 3 a aproximadamente 750, o 3 a aproximadamente 500, o 3 a aproximadamente 250, o 3 a aproximadamente 125, o 3 a aproximadamente 100, o 3 a aproximadamente 80, o 3 a aproximadamente 60, o 3 a aproximadamente 40, o 3 a aproximadamente 20, o 3 a aproximadamente 10, o 3 a aproximadamente 5, o 4 a aproximadamente 1,500, o 4 a aproximadamente 1,250, o 4 a aproximadamente 1,000, o 4 a aproximadamente 750, o 4 a aproximadamente 500, o 4 a aproximadamente 250, o 4 a aproximadamente 125, o 4 a aproximadamente 100, o 4 a aproximadamente 80, o 4 a aproximadamente 60, o 4 a aproximadamente 40, o 4 a aproximadamente 20 , o de 4 a aproximadamente 10, o de 4 a 5; los grupos hidrófilos pueden ser independientemente uno o más de los grupos mencionados a continuación.

En algunas realizaciones, el grupo o grupos hidrófilos de la unidad estructural hidrófila pendiente, a modo de ilustración y sin limitación, se pueden seleccionar de un grupo amina (una amina primaria, secundaria, terciaria o cuaternaria), un grupo amida, un grupo hidroxilo, un grupo éster, un grupo éter, un grupo poliéter (por ejemplo, un grupo polioxietileno y un grupo polioxipropileno), un grupo epitóxido, un grupo tioéter, un grupo politioéter, un grupo sulfato, un grupo sulfito, un grupo fosfato, un grupo fosfito, un grupo fosfatidilcolina, un grupo betaína, un grupo sulfobetaína, un grupo nitrilo, un grupo isonitrilo, un grupo cianato, un grupo isocianato, un grupo tiocianato, un grupo isotiocianato, un grupo azida, un grupo tiol, un grupo tiolato, un grupo sulfuro, un grupo sulfinato, un grupo sulfonato, un grupo fenolato, un grupo carbonilo, un grupo carboxilato, un grupo fosfina, un grupo óxido de fosfina, un grupo ácido fosfónico y un grupo fosforamida, así como combinaciones y mezclas de tales grupos . En algunas realizaciones, el grupo o grupos hidrófilos, a modo de ilustración y sin limitación, se pueden seleccionar de los grupos que consisten en grupos amina (aminas primarias, secundarias, terciarias o cuaternarias), grupos amida, grupos hidroxilo, grupos éster, grupos éter, grupos poliéter, grupos tioéter, grupos sulfato, grupos sulfito, grupos fosfato, grupos fosfito, grupos fosfatidilcolina, grupos betaína y grupos sulfobetaína.

En algunas realizaciones, el peso molecular (Daltons) (Da) del copolímero es aproximadamente 300 a aproximadamente 10.000.000 o más, o aproximadamente 500 a aproximadamente 10.000.000, o aproximadamente 1.000 a aproximadamente 10.000.000, o aproximadamente 10.000 a aproximadamente 10.000.000, o aproximadamente 100.000 a aproximadamente 10,000,000, o 300 a aproximadamente 5,000,000 o más, o aproximadamente 500 a aproximadamente 5,000,000, o aproximadamente 1,000 a aproximadamente 5,000,000, o aproximadamente 10,000 a aproximadamente 5,000,000, o aproximadamente 100,000 a aproximadamente 5,000,000, o 300 a aproximadamente 1,000,000 o más, o aproximadamente 500 a aproximadamente 1,000,000, o aproximadamente 1,000 a aproximadamente 1,000,000, o aproximadamente 10,000 a aproximadamente 1,000,000, o aproximadamente 100,000 a aproximadamente 1,000,000, o aproximadamente 100 a aproximadamente 750,000, o aproximadamente 500 a aproximadamente 750,000, o aproximadamente 1,000 a aproximadamente 750,000, o aproximadamente 10,000 a aproximadamente 750,000, o aproximadamente 100,000 a aproximadamente 750,000, o aproximadamente 100 a aproximadamente 500,000, o aproximadamente 200 a aproximadamente 500,000, o aproximadamente 1,000 a aproximadamente 500,000, o aproximadamente 10,000 a aproximadamente 500,000, o aproximadamente 100,000 a aproximadamente 500,000, por ejemplo.

En algunas realizaciones, el copolímero comprende un esqueleto polietilénico del que depende una o más unidades estructurales que contienen funcionalidad reactiva o derivado de funcionalidad reactiva que contiene tal como, por ejemplo, una o más unidades estructurales que contienen aldehído o unidades estructurales que contienen derivado de aldehído y una o más unidades estructurales que comprenden al menos 1 átomo de carbono y al menos 2 heteroátomos. El esqueleto polietilénico comprende una cadena lineal de grupos etilénicos, es decir, grupos -(CHR-CHR) (donde R es alquilo o hidrógeno) que se forman a partir de monómeros que comprenden enlaces dobles. Se incluyen también otros tipos de esqueletos poliméricos y dependen de la naturaleza de los monómeros. Los monómeros a partir de los cuales se forma el copolímero incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, monómeros de vinilo, monómeros alílicos, olefinas y cualquier molécula pequeña que contenga al menos un grado de insaturación, y mezclas o dos o más de los monómeros anteriores en los que la funcionalidad polimerizable es un enlace doble carbono-carbono o un enlace triple carbono-carbono. Además de la funcionalidad polimerizable, el monómero comprende también una sustitución apropiada de una funcionalidad reactiva o un derivado de una funcionalidad reactiva o al menos 1 átomo de carbono y al menos 2 heteroátomos. Las clases de monómeros de vinilo incluyen, pero no se limitan a, ácido metacrílico, metacrilatos, metacrilamida, metacrilamidas N y N,N-no sustituidas, monómeros aromáticos de vinilo, haluros de vinilo, ésteres de vinilo de ácidos carboxílicos (por ejemplo, acetato de vinilo), óxido de etileno acrilatos, diacrilatos y dimetacrilatos.

Ejemplos de metacrilatos incluyen metacrilatos sustituidos apropiadamente con una unidad estructural pendiente de acuerdo con las presentes realizaciones donde los metacrilatos incluyen, a modo de ilustración y sin limitación, metacrilato de metilo, metacrilato de etilo, metacrilato de propilo, metacrilato de isopropilo, metacrilato de n-butilo, metacrilato de isobutilo y metacrilato de tert-butilo, por ejemplo. Ejemplos de monómeros aromáticos de vinilo que se pueden usar incluyen, pero sin limitación, estireno, estireno-butadieno, p-clorometilestireno y divinilbenceno sustituidos apropiadamente, por ejemplo. Los haluros de vinilo que se pueden usar incluyen, pero no se limitan a, cloruro de vinilo y fluoruro de vinilideno sustituidos apropiadamente. Los ésteres vinílicos de ácidos carboxílicos que

se pueden usar incluyen, pero sin limitación, acetato de vinilo sustituido apropiadamente, butirato de vinilo, 3,4-dimetoxibenzoato de vinilo, malato de vinilo y benzoato de vinilo.

El copolímero se sintetiza de acuerdo con la química estándar del polímero para la síntesis de copolímeros aleatorios usando las unidades monoméricas apropiadas como se identificó anteriormente. En algunas realizaciones, las unidades monoméricas que comprenden una o más funcionalidades polimerizables se pueden combinar en una sola etapa de polimerización. Como se menciona anteriormente, en este último enfoque de polimerización, el número de cada uno de los monómeros copolimerizados del copolímero se puede controlar controlando la concentración molar de las unidades monoméricas.

Los copolímeros aleatorios se pueden preparar mediante cualquier técnica de polimerización para la preparación de copolímeros aleatorios. Las técnicas de polimerización incluyen, por ejemplo, polimerización por radicales, polimerización por radicales de transferencia atómica, fragmentación por adición reversible y polimerización por transferencia de cadena, polimerización mediada por nitróxido, y así sucesivamente. Las condiciones para la polimerización tales como, por ejemplo, temperatura, medio de reacción, pH, duración y el orden de adición de los reactivos dependen de uno o más del tipo de polimerización empleado, la naturaleza de los reactivos monoméricos incluyendo cualquier funcionalidad polimerizable empleada y la naturaleza de cualquier catalizador empleado, por ejemplo. Tales condiciones son generalmente conocidas dado que los tipos de técnicas de polimerización que se pueden usar son bien conocidas en la técnica.

Como se mencionó anteriormente, una composición de acuerdo con algunas de las realizaciones presentes comprende un soporte sólido que comprende un miembro sps y un recubrimiento del copolímero sintético. El soporte sólido se puede componer por un material insoluble en agua, orgánico o inorgánico, que puede ser transparente o parcialmente transparente. El soporte sólido tiene una superficie que es hidrófoba y puede tener cualquiera de una serie de formas tales como, por ejemplo, partículas, que incluyen perlas y partículas, películas, membranas, tubos, caja, tiras, varillas y superficies planas tales como, por ejemplo, placas. Dependiendo del tipo de ensayo, el soporte sólido se puede o no suspender en el medio en el que se emplea. Los ejemplos de un soporte sólido que se suspende incluyen materiales poliméricos tales como partículas de látex y partículas magnéticas. Otras composiciones sólidas de soporte incluyen polímeros, tales como poli(cloruro de vinilo), poliacrilamida, poliacrilato, polietileno, polipropileno, poli(4-metilbuteno), poliestireno, polimetacrilato, poli(tereftalato de etileno), nailon y poli(butirato de vinilo) por ejemplo; ya sea que se usen por sí mismos o en conjunto con otros materiales.

En algunas realizaciones, el soporte sólido es una partícula. Las partículas generalmente tienen un diámetro promedio de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 100 micrómetros, o aproximadamente 0,05 a aproximadamente 100 micrómetros, o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 micrómetros, o aproximadamente 0,5 a aproximadamente 100 micrómetros, o aproximadamente 0,02 a aproximadamente 50 micrómetros, o aproximadamente 0,05 a aproximadamente 50 micrómetros, o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 micrómetros, o aproximadamente 0,5 a aproximadamente 50 micrómetros, o aproximadamente 0,02 a aproximadamente 20 micrómetros, o aproximadamente 0,05 a aproximadamente 20 micrómetros, o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 micrómetros, o aproximadamente 0,5 a aproximadamente 20 micras, por ejemplo. En algunas realizaciones, las partículas tienen un diámetro promedio de aproximadamente 0,05 micrómetros a aproximadamente 20 micrómetros o de aproximadamente 0,3 micrómetros a aproximadamente 10 micrómetros, o aproximadamente de 0,3 micrómetros a aproximadamente 5 micrómetros, por ejemplo. En algunas realizaciones, las partículas son partículas de látex o partículas de cromo.

Una partícula de látex es un material polimérico insoluble en agua, que se suspende en agua en partículas. En algunas realizaciones, el látex es un polietileno sustituido tal como poliestireno-butadieno, poliacrilamida-poliestireno, poliestireno con grupos amino, ácido poli-acrílico, ácido polimetacrílico, acrilonitrilo-butadieno, copolímeros de estireno, acrilato de polivinilacetato, polivinilpiridina, copolímeros de acrilato de cloruro de vinilo, y similares.

Las partículas poliméricas se pueden formar a partir de polímeros de adición o condensación. Las partículas se dispersarán fácilmente en un medio acuoso y se pueden hacer funcionar para permitir la conjugación con uno o más de un copolímero como se describe aquí, un miembro de un sistema productor de señales (sps) y un miembro de un par de unión específico (sbp), por ejemplo. Las partículas se pueden derivar también de materiales naturales, materiales naturales que se modifican sintéticamente y materiales sintéticos. En algunas realizaciones, las partículas tienen, ya sea natural o sintéticamente, una funcionalidad reactiva tal como, por ejemplo, grupos amina, que son reactivos con una funcionalidad reactiva correspondiente del copolímero tal como, por ejemplo, grupos aldehído.

Como se mencionó anteriormente, el copolímero es un recubrimiento sobre el soporte. El revestimiento del soporte con el copolímero se puede realizar de varias maneras. El copolímero se puede unir covalentemente a la superficie del soporte. En algunas realizaciones, la unión covalente se puede realizar mediante la reacción de algunas de las funcionalidades reactivas tales como, por ejemplo, grupos aldehído, del copolímero con una funcionalidad en la superficie del soporte de una manera similar a la que se discutió anteriormente con respecto al derivado de aldehído. Como se mencionó anteriormente, en algunas realizaciones, dependiendo de la naturaleza del soporte, las funcionalidades adecuadas ya pueden estar presentes en la superficie del soporte o se pueden introducir sintéticamente en la superficie. Las funcionalidades reactivas restantes tales como, por ejemplo, grupos aldehído, se disponen para la reacción con un miembro de sbp funcionalizado adecuadamente, por ejemplo.

En algunas realizaciones, la cantidad del copolímero que se dispone como recubrimiento sobre el soporte depende de uno o más de la naturaleza del soporte, la naturaleza del copolímero, la naturaleza del miembro sps, ya sea si la unión del copolímero al soporte es por virtud del sitio de soporte de aldehído, y si un miembro de sbp se une al sitio de soporte de aldehído, por ejemplo. En algunas realizaciones, la cantidad (porcentaje en peso) de copolímero que se recubre sobre el soporte es de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10%, o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 9%, o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 8%, o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 7%, o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 6%, o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5%, o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 4%, o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 3%, o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 2%, o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1%, o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,5%, o aproximadamente 1 a aproximadamente 10%, o aproximadamente 1 a aproximadamente 9%, o aproximadamente 1 a aproximadamente 8%, o aproximadamente 1 a aproximadamente 7%, o aproximadamente 1 a aproximadamente 6%, o aproximadamente 1 a aproximadamente 5 %, o aproximadamente 1 a aproximadamente 4%, o aproximadamente 1 a aproximadamente 3%, o aproximadamente 1 a aproximadamente 2%, o aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,5%, o aproximadamente 0,06 a aproximadamente 0,5%, o aproximadamente 0,07 a aproximadamente 0,5%, o aproximadamente 0,08 a aproximadamente 0,5%, o aproximadamente 0,09 a aproximadamente 0,5%, o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,5%, o aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,4%, o aproximadamente 0,06 a aproximadamente 0,4%, o aproximadamente 0,07 a aproximadamente 0,4%, o aproximadamente 0,08 a aproximadamente 0,4%, o aproximadamente 0,09 a aproximadamente 0,4%, o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,4%, o aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,3%, o aproximadamente 0,06 a aproximadamente 0,3%, o un entre 0,07 y aproximadamente 0,3%, o aproximadamente 0,08 a aproximadamente 0,3%, o aproximadamente 0,09 a aproximadamente 0,3%, o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3%, o aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,2%, o aproximadamente 0,06 a aproximadamente 0,2%, o aproximadamente 0,07 a aproximadamente 0,2%, o aproximadamente 0,08 a aproximadamente 0,2%, o aproximadamente 0,09 a aproximadamente 0,2%, o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,2%, por ejemplo.

La selección de un revestimiento de copolímero para una partícula que comprende un miembro de un sistema de producción de señal depende de uno o más de un número de factores tales como, por ejemplo, el tipo de ensayo, la naturaleza del miembro del sistema de producción de señal, el rango de concentración que se espera del analito, las características físicas y el origen del anticuerpo, la variación en la densidad efectiva del recubrimiento del anticuerpo, el pH de la mezcla de reacción final y la fuerza iónica de la mezcla de reacción final. Dependiendo de tales factores, se puede preferir en cualquier aplicación particular un recubrimiento de copolímero sobre otro recubrimiento de copolímero. Por ejemplo, la densidad efectiva de recubrimiento del anticuerpo puede ser óptima para un sistema de producción de señal cuando un anticuerpo particular se conjuga con un recubrimiento de copolímero particular. La cantidad de señal se puede controlar, por ejemplo, ajustando las relaciones de transmisión de los primeros y segundos monómeros polimerizables durante la copolimerización.

Como se mencionó anteriormente, la composición comprende también un miembro sps. La naturaleza del miembro sps depende del tipo de ensayo en el que se pueden emplear realizaciones de las presentes composiciones. Tales ensayos incluyen, por ejemplo, métodos de inmunoprecipitina y aglutinación y técnicas de dispersión de luz correspondientes tales como, por ejemplo, nefelometría y turbidimetría, para la detección de complejos de anticuerpos; y ensayos marcados (por ejemplo, inmunoensayos marcados) tales como, por ejemplo, ensayos de luminiscencia inducida (canalización de oxígeno luminiscente), ensayos de canalización de oxígeno fluorescente, ensayos marcados con enzima, ensayos de polarización de fluorescencia, ensayos radiomarcados y ensayos de inhibición.

El miembro sps puede ser un marcador, que es parte de un sistema de producción de señal. La naturaleza del marcador depende del formato de ensayo particular como se discutió anteriormente. Un sistema de producción de señal puede incluir uno o más componentes, al menos un componente es un marcador detectable, que genera una señal detectable que se relaciona con una o ambas cantidades de marcador unido y no enlazado, es decir, la cantidad de marcador unido o no ligado al analito que se detecta o a un agente que refleja la cantidad de analito a detectar. El marcador es cualquier molécula que produce o se puede inducir para producir una señal, y puede ser, por ejemplo, un fluorescente, radiomarcador, enzima, quimioluminiscente o fotosensibilizador. De este modo, la señal se detecta y/o mide detectando la actividad enzimática, la luminiscencia, la absorbancia de la luz o la radioactividad, por ejemplo, según sea el caso.

Los marcadores adecuados incluyen, a modo de ilustración y sin limitación, enzimas tales como fosfatasa alcalina, glucosa 6-fosfato deshidrogenasa ("G6PDH") y peroxidasa de rábano picante; ribozima; un sustrato para una replicasa tal como replicasa QB; promotores; tintes; fluorescentes, tales como fluoresceína, isotiocianato, compuestos de rodamina, ficoeritrina, ficocianina, aloficocianina, o-ftaldehído y fluorescamina; complejos tales como los preparados a partir de CdSe y ZnS presentes en nanocristales semiconductores que se conocen como puntos cuánticos; quimioluminiscentes tales como isoluminol; sensibilizadores que incluyen fotosensibilizadores; coenzimas; sustratos de enzima; radiomarcadores tales como ^{125}I, ^{131}I, ^{14}C, ^{3}H, ^{57}Co y ^{75}Se; partículas tales como partículas de látex, partículas de carbono, partículas metálicas que incluyen partículas magnéticas, por ejemplo, partículas de dióxido de cromo (CrO_2) y similares; soles de metal; cristalita; liposomas; nucleótidos y células, por ejemplo, que se pueden marcar adicionalmente con un colorante, catalizador u otro grupo detectable.

El marcador puede producir directamente una señal y, por lo tanto, no se requieren componentes adicionales para producir una señal. Numerosas moléculas orgánicas, por ejemplo, fluorescentes, son capaces de absorber luz ultravioleta y visible, donde la absorción de luz transfiere energía a estas moléculas y las eleva a un estado de energía excitada. Esta energía absorbida se disipa luego mediante la emisión de luz a una segunda longitud de onda. Otros marcadores que producen directamente una señal incluyen isótopos radiactivos y colorantes.

Alternativamente, el marcador puede necesitar otros componentes para producir una señal, y el sistema de producción de señal incluiría entonces todos los componentes que se requieren para producir una señal medible. Dichos otros componentes pueden incluir, por ejemplo, sustratos, coenzimas, potenciadores, enzimas adicionales, sustancias que reaccionan con productos enzimáticos, catalizadores, activadores, cofactores, inhibidores, eliminadores, iones metálicos y una sustancia de unión específica que se requiere para la unión de sustancias generadoras de señales.

Como se mencionó anteriormente, en las presentes composiciones, el miembro sps se asocia con el soporte. La forma de asociación del miembro sps con el soporte sólido depende de una o más de la naturaleza del soporte, la naturaleza del miembro sps, el área superficial y la porosidad del soporte y la naturaleza de cualquier disolvente que se emplea, por ejemplo. La asociación puede ser por adsorción del miembro sps por el soporte, unión covalente del miembro sps al soporte, disolución o dispersión del miembro sps en el soporte sólido, unión no covalente del miembro sps al soporte por medio de miembros del par de unión (por ejemplo, avidina-biotina y digoxina-anticuerpo para digoxina), por ejemplo. De esta manera, el miembro sps "se asocia con" el soporte sólido.

Como se usa en este documento, la frase "se asocia con" incluye unión covalente de una unidad estructural a otra unidad estructural mediante un enlace directo o a través de un grupo espaciador, unión no covalente de una unidad estructural a otra unidad estructural directamente o por medio de miembros de pares de unión específica que se une a las unidades estructurales, incorporación de una unidad estructural en otra unidad estructural tal como al disolver una unidad estructural en otra unidad estructural o mediante síntesis, y recubrimiento de una unidad estructural en otra unidad estructural, por ejemplo.

La asociación de un miembro sps tal como, por ejemplo, un sensibilizador o un compuesto quimioluminiscente, con partículas de látex puede implicar la incorporación durante la formación de las partículas mediante polimerización o incorporación en partículas preformadas, por ejemplo, mediante disolución no covalente en las partículas, por ejemplo. En algunos enfoques, se emplea una solución del miembro sps. Los disolventes que se pueden usar incluyen, por ejemplo, alcoholes, que incluyen, por ejemplo, etanol, etoxietanol, metoxietanol, etilenglicol y alcohol bencílico; amidas tales como, por ejemplo, dimetilformamida, formamida, acetamida y tetrametilurea; sulfóxidos tales como, por ejemplo, dimetilsulfóxido y sulfolano; y éteres tales como, por ejemplo, carbitol, etilcarbitol y dimetoxietano; y agua; y mezclas de dos o más de los anteriores. El uso de disolventes que tienen puntos de ebullición elevados en los que las partículas son insolubles permite el uso de temperaturas elevadas para facilitar la disolución de los compuestos en las partículas y son particularmente adecuados. Los solventes se pueden usar solos o en combinación. Se debe seleccionar un disolvente que no interfiera con la capacidad de producción de señal de los miembros sps debido a sus propiedades intrínsecas o su capacidad para eliminarse de las partículas. En algunas realizaciones, se pueden emplear disolventes aromáticos tales como, por ejemplo, ftalato de dibutilo, benzonitrilo, naftonitrilo, dioftalato de dioctilo, diclorobenceno, éter difenílico y dimetoxibenceno.

Generalmente, la temperatura que se emplea durante el procedimiento se elige para maximizar la cantidad de señal de las partículas del miembro sps con la condición de que las partículas no se fundan o se agreguen a la temperatura que se selecciona. En algunas realizaciones, se emplean temperaturas elevadas. Las temperaturas para el procedimiento pueden variar de aproximadamente 20°C a aproximadamente 200°C, o de aproximadamente 50°C a aproximadamente 170°C. Se ha observado que algunos compuestos que son casi insolubles a temperatura ambiente son solubles en, por ejemplo, alcoholes de bajo peso molecular, tales como etanol y etilenglicol, por ejemplo, a temperaturas elevadas. Se ha demostrado que las partículas carboxiladas de látex modificado toleran alcoholes de bajo peso molecular a tales temperaturas.

En algunas realizaciones de las presentes composiciones, el miembro sps se selecciona del grupo que consiste en sensibilizadores, que incluyen fotosensibilizadores, y compuestos quimioluminiscentes como se discute más completamente a continuación.

Un compuesto quimioluminiscente (quimioluminiscente) es un compuesto que se activa químicamente y, como resultado de dicha activación, emite luz a una cierta longitud de onda. Los ejemplos de quimioluminiscentes, a modo de ilustración y sin limitación, incluyen olefinas capaces de reaccionar con oxígeno atómico o un peróxido para formar hidroperóxidos o dioxetanos, que se pueden descomponer en cetonas o derivados de ácido carboxílico; dioxetanos estables que se pueden descomponer por la acción de la luz; acetilenos que pueden reaccionar con oxígeno atómico para formar dicetonas; hidrazonas o hidrazidas que pueden formar compuestos azo o azo carbonilos tales como luminol; y compuestos aromáticos que pueden formar endoperóxidos, por ejemplo. Como consecuencia de la reacción de activación, los quimioluminiscentes causan directa o indirectamente la emisión de luz.

Un sensibilizador es una molécula, generalmente un compuesto, para la generación de un intermedio reactivo tal como, por ejemplo, oxígeno atómico, para la activación de un compuesto quimioluminiscente. En algunas realizaciones de las presentes composiciones, el sensibilizador es un fotosensibilizador. Otros sensibilizadores que se pueden activar químicamente (por ejemplo, enzimas y sales metálicas) incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, otras sustancias y composiciones que pueden producir oxígeno atómico con o, menos preferiblemente, sin activación por una fuente de luz externa. Por ejemplo, se ha demostrado que ciertos compuestos catalizan la conversión de peróxido de hidrógeno en oxígeno atómico y agua. Se incluyen también dentro del alcance de los fotosensibilizadores compuestos que no son sensibilizadores verdaderos pero que con la excitación por calor, luz, radiación ionizante o activación química liberarán una molécula de oxígeno atómico. Los miembros más conocidos de esta clase de compuestos incluyen los endoperóxidos tales como 1,4-biscarboxietil-1,4-naftaleno-endoperóxido, 9,10-difenilantraceno-9,10-endoperóxido y 5,6,11,12-tetrafenilnaftaleno-5,12-endoperóxido. El calentamiento o la absorción directa de la luz por estos compuestos libera oxígeno atómico.

Un fotosensibilizador es un sensibilizador para la activación de un compuesto fotoactivo, por ejemplo, mediante la generación de oxígeno atómico por excitación con luz. Los fotosensibilizadores son fotoactivables e incluyen, por ejemplo, tintes y compuestos aromáticos, y normalmente son compuestos que se componen por átomos unidos covalentemente, habitualmente con múltiples enlaces dobles o triples conjugados. Los compuestos deberían absorber luz en el intervalo de longitud de onda de 200 a 1.100 nm, o 300 a 1.000 nm, o 450 a 950 nm, con un coeficiente de extinción en su absorbancia máxima superior a 500 M^{-1} cm^{-1} o superior a 5.000 M^{-1} cm^{-1}, o mayor que 50,000 M^{-1} cm^{-1}, a la longitud de onda de excitación. Los fotosensibilizadores deberían ser relativamente fotoestables y, preferiblemente, no reaccionar de manera eficiente con el oxígeno atómico. Los ejemplos de fotosensibilizadores, a modo de ilustración y sin limitación, incluyen acetona, benzofenona, 9-tioxantona, eosina, 9,10-dibromoantraceno, azul de metileno, metaloporfirinas, tales como hematoporfirina, ftalocianinas, clorofilas, rosa de bengala y buckminsterfullereno, por ejemplo, y derivados de estos compuestos.

Los ejemplos de compuestos quimioluminiscentes y fotosensibilizadores que se pueden usar en las realizaciones de las presentes composiciones se exponen en la Patente de Estados Unidos Nº 5.340.716 (Ullman, et al.).

La unidad estructural pendiente del monómero polimerizado (primer monómero polimerizado) que comprende un aldehído o un derivado de aldehído es

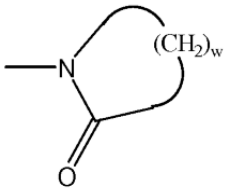
-C(O)-A-(CH_2)n-G

en la que:

A es NR^1 en la que R^1 es H o alquilo de 1 a 6, o 1 a 5, o 1 a 4, o 1 a 3, o 1 a 2, o 2 a 6, o 2 a 5, o 2 a 4, o 2 a 3, o 3 a 6, o 3 a 5, o 3 a 4, o 4 a 6, o 4 a 5, o 5 a 6 átomos de carbono, por ejemplo;

n es 1 a 10, o 1 a 9, o 1 a 8, o 1 a 7, o 1 a 6, o 1 a 5, 1 a 4, o 1 a 3, o 1 a 2, o 2 a 10, o 2 a 9, o 2 a 8, o 2 a 7, o 2 a 6, o 2 a 5, 2 a 4, o 2 a 3, o 3 a 10, o 3 a 9, o 3 a 8, o 3 a 7, o 3 a 6, o 3 a 5, o 3 a 4, o 4 a 10, o 4 a 9, o 4 a 8, o 4 a 7, o 4 a 6, o 4 a 5, o 5 a 10, o 5 a 9, o 5 a 8, o 5 a 7, o 5 a 6, o 6 a 10, o 6 a 9, o 6 a 8, o 6 a 7, o 7 a 10, o 7 a 9, o 7 a 8, u 8 a 10, u 8 a 9, o 9 a 10, por ejemplo; y G es CHO; $CH(OR^8)_2$ en donde R^8 es alquilo de 1 a 6, o 1 a 5, o 1 a 4, o 1 a 3, o 1 a 2, o 2 a 6, o 2 a 5, o 2 a 4, o 2 a 3, o 3 a 6, o 3 a 5, o 3 a 4, o 4 a 6, o 4 a 5, o 5 a 6 átomos de carbono, por ejemplo;

La unidad estructural pendiente del monómero polimerizado que comprende al menos 1 átomo de carbono y al menos 2 heteroátomos tiene la fórmula:



en la que: w es 2-4, o 2-3, o 3-4, o 2, o 3, o 4.

En algunas realizaciones, la unidad estructural pendiente comprende aproximadamente 4 átomos de carbono y aproximadamente 3 heteroátomos. En algunas realizaciones, la unidad estructural pendiente comprende aproximadamente 8 átomos de carbono y aproximadamente 7 heteroátomos. En algunas realizaciones, la unidad estructural pendiente comprende aproximadamente 4 átomos de carbono y aproximadamente 2 heteroátomos. En algunas realizaciones, la unidad estructural pendiente comprende 1 átomo de carbono y aproximadamente 2 heteroátomos.

Descripción general de los ensayos en los que se pueden usar las presentes composiciones

La siguiente discusión es a modo de ilustración y sin limitación. Las presentes composiciones se pueden emplear en cualquier ensayo que emplee un reactivo de partículas. Las presentes composiciones tienen una aplicación particular a ensayos en los que se usa una partícula que se recubre de polímero donde la partícula que no recubre tiene una superficie hidrófoba. Los ensayos se pueden realizar sin separación (homogénea) o con separación (heterogénea) de cualquiera de los componentes o productos de ensayo. Los ensayos heterogéneos generalmente implican uno o más pasos de separación y pueden ser competitivos o no competitivos.

Los inmunoensayos pueden incluir reactivos marcados o no marcados. Los inmunoensayos que implican reactivos no marcados comprenden habitualmente la formación de complejos relativamente grandes que implican uno o más anticuerpos. Dichos ensayos incluyen, por ejemplo, métodos de inmunoprecipitina y aglutinación y técnicas de dispersión de luz correspondientes tales como, por ejemplo, nefelometría y turbidimetría, para la detección de complejos de anticuerpos. Los inmunoensayos marcados incluyen inmunoensayos de quimioluminiscencia, inmunoensayos enzimáticos, inmunoensayos de polarización de fluorescencia, radioinmunoensayo, ensayo de inhibición, luminiscencia inducida, ensayo de canalización de oxígeno fluorescente, y así sucesivamente.

Un grupo general de inmunoensayos en el que las realizaciones de las presentes composiciones se pueden emplear para determinar la presencia y/o cantidad de analito en una muestra, incluye inmunoensayos que usan una concentración limitada de uno de los reactivos de ensayo. Otro grupo de inmunoensayos implica el uso de un exceso de uno o más de los principales reactivos. Otro grupo de inmunoensayos son los ensayos homogéneos sin separación en los que los reactivos marcados modulan la señal del marcador tras la unión de la presente composición y un analito en la muestra.

En un ensayo heterogéneo competitivo típico, una realización de la presente composición que comprende un miembro sbp que se une a un analito se pone en contacto con un medio que contiene la muestra sospechosa de contener el analito y el analito que se conjuga con un marcador que es reactivo con el miembro sps de la presente composición o con un producto de la activación del miembro sps. La activación del miembro sps en la presente composición produce una señal de marcador, si se presenta el analito, que se determina por técnicas convencionales y se relaciona con la cantidad de analito en la muestra.

En un ensayo tipo sándwich no competitivo típico, se forma un complejo inmune tipo sándwich en un medio de ensayo. El complejo comprende el analito, un miembro sbp (primer miembro sbp) de las presentes composiciones y un segundo miembro sbp que se une al analito o al primer miembro sbp. Posteriormente, se detecta el complejo inmune tipo sandwich y se relaciona con la cantidad de analito en la muestra. El complejo inmune tipo sandwich se detecta en virtud de la presencia en el complejo de uno o más de un marcador de la presente composición y un marcador del segundo miembro sbp.

Algunos ensayos conocidos usan un sistema de producción de señal que emplea primeros y segundos miembros sps. Los miembros sps se pueden relacionar en que la activación de un miembro de los sps produce un producto tal como, por ejemplo, luz, que da como resultado la activación de otro miembro de los sps.

En un enfoque en un ensayo tipo sándwich, se pone en contacto una primera incubación de la presente composición con un medio que contiene una muestra que se sospecha de contener el analito. Después de una etapa de lavado y separación, el soporte de la presente composición se pone en contacto con un medio que contiene un segundo miembro sbp tal como, por ejemplo, un anticuerpo para el analito, que contiene un marcador tal como una enzima, durante un segundo período de incubación. Los marcadores se relacionan porque la activación de uno de los marcadores activa el otro marcador ya sea si el analito se presenta en el medio. El soporte se lava nuevamente y se separa del medio y se examina el medio o el soporte para detectar la presencia de una señal. La presencia y la cantidad de señal se relacionan con la presencia o cantidad del analito.

En una variación del ensayo tipo sándwich anterior, la muestra que se sospecha que contiene el analito en un medio adecuado se pone en contacto con el anticuerpo que se marca para el analito y se incuba durante un período de tiempo. Luego, el medio se pone en contacto con la presente composición, que comprende un marcador que se relaciona con el marcador del anticuerpo que se marca como se discutió anteriormente. Después de un período de incubación, el soporte se separa del medio y se lava para eliminar los reactivos no unidos. El soporte o el medio se examina para detectar la presencia de una señal, que se relaciona con la presencia o cantidad de analito. En otra variación de lo anterior, la muestra, la presente composición y el anticuerpo que se marca se combinan en un medio y se incuban en una única etapa de incubación. La separación, los pasos de lavado y el examen de la señal son como se describió anteriormente.

En algunas realizaciones de ensayos que se conocen, los miembros sps comprenden un sensibilizador tal como, por ejemplo, un fotosensibilizador, y una composición quimioluminiscente en la que la activación del sensibilizador da como resultado un producto que activa la composición quimioluminiscente. El segundo miembro sps general generalmente una señal detectable que se relaciona con la cantidad de miembro sps ligado y/o no enlazado, es decir, la cantidad de miembro sps que se enlaza o no al analito que se detecta o un agente que refleja la cantidad de analito que se va a detectar. De acuerdo con las realizaciones de la presente invención, la presente composición puede comprender uno del reactivo sensibilizador o del reactivo quimioluminiscente.

En una realización de tal ensayo, se puede emplear un inmunoensayo de luminiscencia inducido cuando el ensayo usa una composición de acuerdo con las presentes realizaciones, que incluye un sensibilizador o un compuesto quimioluminiscente como el miembro sps de la composición. El inmunoensayo de luminiscencia inducida se menciona en la patente de los Estados Unidos No. 5.340.716 (Ullman). En un enfoque de acuerdo con las presentes realizaciones, el ensayo usa una partícula que se reviste con un copolímero de acuerdo con las presentes realizaciones y que tiene asociado un fotosensibilizador y un primer miembro sbp. El reactivo quimioluminiscente comprende un segundo miembro sbp. Los miembros sbp se unen al analito para formar un complejo, o el primer miembro sbp se une al segundo miembro sbp para formar un complejo, en relación con la presencia del analito en el medio. Si se presenta el analito, el fotosensibilizador y el compuesto quimioluminiscente se acercan mucho en virtud de la unión en función de la presencia del analito. El fotosensibilizador genera oxígeno atómico y activa el reactivo quimioluminiscente cuando los dos marcadores están muy cerca. El reactivo quimioluminiscente que se activa produce posteriormente luz. La cantidad de luz que se produce se relaciona con la cantidad del complejo que se forma, que a su vez se relaciona con la cantidad de analito presente.

En algunas realizaciones del ensayo de luminiscencia inducida, se emplea una partícula fotosensibilizadora que se conjuga con avidina o estreptavidina. Se emplea también un miembro sbp biotinilado que se une al analito. Una realización de las presentes composiciones se emplea cuando el miembro sps es un reactivo quimioluminiscente y el miembro sbp se une al analito, se emplea como parte del sistema de detección. El medio de reacción se incuba para permitir que las partículas fotosensibilizadoras se unan al miembro sbp biotinilado en virtud de la unión entre avidina y biotina y para permitir también que el par de unión para el analito que es parte de la presente composición se una al analito. Luego, el medio se irradia con luz para excitar el fotosensibilizador, que es capaz de, en su estado excitado, activar el oxígeno a un estado atómico. Debido a que el reactivo quimioluminiscente está ahora muy cerca del fotosensibilizador en virtud de la presencia del analito, se activa por el oxígeno atómico y emite luminiscencia. El medio se examina a continuación para determinar la presencia y/o la cantidad de luminiscencia o luz emitida, al relacionar su presencia con la presencia y/o cantidad del analito.

La concentración del analito que se puede ensayar varía generalmente de aproximadamente 10^{-5} a aproximadamente 10^{-17} M, o de aproximadamente 10^{-6} a aproximadamente 10^{-14} M. Consideraciones, tales como si el ensayo es cualitativo, semicuantitativo o cuantitativo (relativo a la cantidad del analito presente en la muestra), la técnica de detección particular y la concentración esperada del analito, determinan normalmente las concentraciones de los diversos reactivos.

Las concentraciones de los diversos reactivos en el medio de ensayo se determinarán generalmente por el intervalo de concentración de interés del analito, la naturaleza del ensayo y similares. Sin embargo, la concentración final de cada uno de los reactivos se determina normalmente de forma empírica para optimizar la sensibilidad del ensayo en el intervalo. Es decir, una variación en la concentración de analito que es significativa debería proporcionar una diferencia de señal exactamente medible. Consideraciones tales como la naturaleza del sistema de producción de señal y la naturaleza de los analitos, por ejemplo, determinan las concentraciones de los diversos reactivos.

Como se mencionó anteriormente, la muestra y los reactivos se proporcionan en combinación en el medio. A la vez que se puede variar el orden de adición al medio, habrá ciertas preferencias para algunas realizaciones de los formatos de ensayo que se describen aquí. El orden más simple de adición, por supuesto, es agregar simultáneamente todos los materiales y determinar el efecto que el medio de ensayo tiene sobre la señal como en un ensayo homogéneo. Alternativamente, cada uno de los reactivos, o grupos de reactivos, se puede combinar secuencialmente. En algunas realizaciones, se puede implicar una etapa de incubación después de cada adición como se discutió anteriormente. En ensayos heterogéneos, las etapas de lavado se pueden emplear también después de una o más etapas de incubación.

Métodos de ensayo que usan realizaciones de las presentes composiciones

Como se mencionó anteriormente, una realización de la presente invención es un método para determinar una o más de la presencia y cantidad de un analito en una muestra. El analito es una sustancia de interés o el compuesto o composición por detectar y/o cuantificar. Los analitos incluyen, por ejemplo, medicamentos, metabolitos, pesticidas y contaminantes. Los analitos representativos, a modo de ilustración y sin limitación, incluyen alcaloides, esteroides, lactamas, aminoalquilbencenos, benzheterocíclicos, purinas, fármacos derivados de la marihuana, hormonas, polipéptidos que incluyen proteínas, inmunosupresores, vitaminas, prostaglandinas, antidepresivos tricíclicos, antineoplásicos, nucleósidos. y nucleótidos que incluyen polinucleósidos y polinucleótidos, medicamentos individuales misceláneos que incluyen metadona, meprobamato, serotonina, meperidina, lidocaína, procainamida, acetilprocainamida, propranolol, griseofulvina, ácido valproico, butirofenonas, antihistamínicos, cloranfenicol, fármacos anticolinérgicos y metabolitos y derivados de todos los anteriores. Se incluyen también metabolitos que se relacionan con estados de enfermedad, aminoglucósidos, tales como gentamicina, kanamicina, tobramicina y amikacina, y pesticidas tales como, por ejemplo, bifenilos polihalogenados, ésteres de fosfato, tiofosfatos, carbamatos y sulfenamidas polihalogenadas y sus metabolitos y derivados. El término analito incluye también combinaciones de dos o más de polipéptidos y proteínas, polisacáridos y ácidos nucleicos. Tales combinaciones incluyen, por ejemplo, componentes de bacterias, virus, cromosomas, genes, mitocondrias, núcleos y membranas celulares. Los analitos proteicos incluyen, por ejemplo, inmunoglobulinas, citoquinas, enzimas, hormonas, antígenos cancerosos, marcadores nutricionales y antígenos específicos de tejidos. Dichas proteínas incluyen, a modo de

ilustración y sin limitación, protaminas, histonas, albúminas, globulinas, escleroproteínas, fosfoproteínas, mucoproteínas, cromoproteínas, lipoproteínas, nucleoproteínas, glicoproteínas, receptores de células T, proteoglicanos, HLA, proteínas no clasificadas, por ejemplo, somatotropina, prolactina, insulina, pepsina, proteínas que se encuentran en el plasma humano, factores de coagulación sanguínea, hormonas proteicas tales como, por ejemplo, hormona foliculoestimulante, hormona luteinizante, luteotropina, prolactina, gonadotropina coriónica, hormonas tisulares, citocinas, antígenos cancerosos tales como, por ejemplo, PSA, CEA, α-fetoproteína, fosfatasa ácida, CA19.9, CA15.3 y CA125, antígenos específicos de tejidos, tales como, por ejemplo, fosfatasa alcalina, mioglobina, CPK-MB y calcitonina, y hormonas peptídicas. Otros materiales poliméricos de interés son mucopolisacáridos y polisacáridos. Como se indicó anteriormente, el término analito incluye además oligonucleótidos y analitos de polinucleótidos tales como m-ARN, r-ARN, t-ARN, ADN y dúplex de ADN-ARN, por ejemplo.

La muestra que se probará puede ser no biológica o biológica. Las "muestras no biológicas" son aquellas que no se relacionan con un material biológico e incluyen, por ejemplo, muestras de suelo, muestras de agua y muestras de minerales. La expresión "muestra biológica" se refiere a cualquier material biológico tal como, por ejemplo, fluido corporal, tejido y similares, que se obtiene del cuerpo de un mamífero. Los fluidos corporales incluyen, por ejemplo, sangre total, plasma, suero, líquido intersticial, sudor, saliva, orina, semen, líquido de ampollas, exudados inflamatorios, heces, esputo, líquido cefalorraquídeo, lágrimas, moco, líquido linfático, moco vaginal, y similares. El tejido biológico incluye tejido extirpado de un órgano u otra parte del cuerpo de un huésped, por ejemplo, biopsias de tejido; cabello y piel; etcétera.

El método comprende proporcionar la muestra en combinación en un medio, que se puede o no tratar previamente, y una realización de la presente composición, que comprende un miembro sbp que se asocia con el soporte. El miembro sbp se une al analito o a un segundo miembro sbp para formar un complejo que se relaciona con la presencia del analito. Un miembro sbp es una de dos moléculas diferentes, que tiene un área en la superficie o en una cavidad, que se une específicamente y se define como complementaria con una organización espacial y polar particular de la otra molécula. Los miembros sbp serán generalmente miembros de un par inmunológico tal como antígeno-anticuerpo; aunque otros pares de unión específica tales como biotina-avidina, hormonas-receptores de hormonas, enzima-sustrato, dúplex de ácido nucleico, IgG-proteína A, pares de polinucleótidos tales como ADN-ADN, ADN-ARN, por ejemplo, no son pares inmunológicos, pero se incluyen dentro del alcance de la expresión miembro sbp. En algunas realizaciones, dependiendo de la naturaleza del ensayo que se llevará a cabo como se explica completamente a continuación, se incluyen otros reactivos en el medio, tales como, por ejemplo, otros miembros sbp y otros miembros sps.

La muestra se puede preparar en cualquier medio conveniente. Por ejemplo, la muestra se puede preparar en un medio de ensayo, que se analiza completamente a continuación. En algunos casos, se puede aplicar un pretratamiento a la muestra, tal como, por ejemplo, para someter a lisis células sanguíneas. Tal pretratamiento se realiza usualmente en un medio que no interfiere posteriormente con un ensayo. Se prefiere un medio acuoso para el pretratamiento.

El miembro sbp se asocia con el soporte de la composición. En algunas realizaciones, el miembro sbp se une covalentemente al copolímero que se recubre sobre el soporte sólido. En algunas realizaciones, el copolímero se une covalentemente al sitio de soporte del aldehído del copolímero que recubre el soporte sólido.

Un medio de ensayo, que en algunas realizaciones es un medio acuoso regulado a un pH moderado, es generalmente uno que proporciona una sensibilidad de ensayo óptima. El medio acuoso puede ser únicamente agua o puede incluir de 0,1 a aproximadamente 40 por ciento en volumen de un codisolvente tal como, por ejemplo, un disolvente orgánico miscible en agua, por ejemplo, un alcohol, un éter o una amida. El pH para el medio estará habitualmente en el intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 11, o en el intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 10, o en el intervalo de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 9,5, por ejemplo. El pH que se usa es a menudo el resultado de un equilibrio entre la unión óptima de los miembros de unión de cualquier par de unión específica y el pH óptimo para otros reactivos del ensayo tales como los miembros del sistema de producción de señal, por ejemplo. Se pueden usar diversos reguladores para alcanzar el pH deseado y mantener el pH durante la determinación. Los reguladores ilustrativos incluyen borato, fosfato, carbonato, tris, barbital, PIPES, HEPES, MES, ACES, MOPS, BICINA y similares. El regulador particular que se emplea no es crítico, pero en un ensayo individual se puede preferir uno u otro regulador.

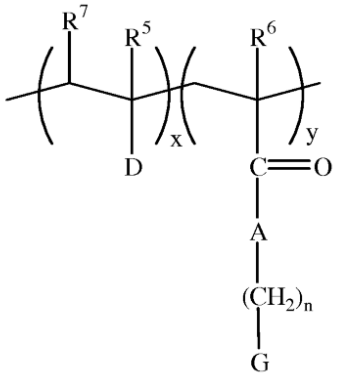
Se pueden emplear diversos materiales auxiliares en los métodos de ensayo. Por ejemplo, además de reguladores, el medio puede comprender estabilizadores para el medio y para los reactivos que se emplean. En algunas realizaciones, además de estos aditivos, el medio puede incluir proteínas tales como, por ejemplo, albúminas; disolventes orgánicos tales como, por ejemplo, formamida; sales de amonio cuaternario; polianiones tales como, por ejemplo, sulfato de dextrano; potenciadores de unión, por ejemplo, polialquilenglicoles; polisacáridos tales como, por ejemplo, dextrano, trehalosa o similares. El medio puede comprender también agentes para prevenir la formación de coágulos sanguíneos. Dichos agentes se conocen bien en la técnica e incluyen, por ejemplo, EDTA, EGTA, citrato y heparina. El medio puede comprender también uno o más conservantes como se conocen en la técnica, tales como, por ejemplo, azida sódica, sulfato de neomicina, PROCLIN® 300 y estreptomicina. Cualquiera de los materiales anteriores, si se emplea, se presenta en una concentración o cantidad suficiente para lograr el efecto o función que se desean.

Como se menciona anteriormente, dependiendo de la naturaleza del ensayo que se emplea, el medio puede comprender además uno o más componentes tales como, por ejemplo, una molécula pequeña, una partícula adicional, miembros sps adicionales y agentes de unión adicionales tales como uno o más miembros sbp (por ejemplo, anticuerpos), que son diferentes de los que hacen parte de la presente composición. Además, dependiendo nuevamente de la naturaleza del ensayo que se emplea, se pueden incluir también otros reactivos en la combinación inicial o añadirse posteriormente.

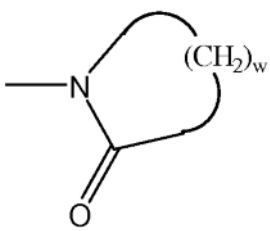
La combinación se somete a condiciones para la unión del analito a la composición para formar un complejo. Dichas condiciones pueden incluir uno o más periodos de incubación que se pueden aplicar al medio a uno o más intervalos que incluyen cualquier intervalo entre adiciones de diversos reactivos que se emplean en un ensayo que incluye los mencionados anteriormente, algunos o todos de los que pueden estar en la combinación inicial. El medio se incuba habitualmente a una temperatura y durante un tiempo suficiente para la unión de diversos componentes de los reactivos y la unión entre miembros sbp complementarios tales como, por ejemplo, para producir un analito y un miembro sbp complementario o primero y segundo miembros sbp. Se emplean normalmente temperaturas moderadas para llevar a cabo el método y, por lo general, temperatura constante, preferiblemente temperatura ambiente, durante el período de medición. En algunas realizaciones, las temperaturas de incubación varían de aproximadamente 5° a aproximadamente 99°C, o de aproximadamente 15°C a aproximadamente 70°C, o de aproximadamente 20°C a aproximadamente 45°C, por ejemplo. El período de tiempo para la incubación es de aproximadamente 0,2 segundos a aproximadamente 24 horas, o aproximadamente 1 segundo a aproximadamente 6 horas, o aproximadamente 2 segundos a aproximadamente 1 hora, o aproximadamente 1 a aproximadamente 15 minutos, por ejemplo. El período de tiempo depende de la temperatura del medio y la velocidad de unión de los diversos reactivos, que se determina por una o más de las constantes de velocidad de asociación, la concentración, la constante de unión y la constante de velocidad de disociación, por ejemplo.

Después de los periodos de incubación anteriores, si los hay, el miembro sps se activa y se detecta la cantidad del complejo que se forma entre el analito y un miembro sbp o entre un miembro sbp y un miembro sbp que es indicativo del analito. La cantidad del complejo se relaciona con una o ambas, la presencia y la cantidad de analito en la muestra. La detección del complejo depende de la naturaleza del ensayo que se realiza, la naturaleza de los miembros sps y la naturaleza de los miembros sbp, por ejemplo.

En una realización, la presente invención es un método para determinar en una muestra una o más de la presencia y cantidad de un analito. Se proporciona una combinación en un medio. La combinación comprende la muestra y una composición que comprende una partícula que comprende un miembro de un sistema productor de señal, un miembro del par de unión específico que se une al analito o a un segundo miembro sbp para formar un complejo que se relaciona con la presencia del analito y un recubrimiento de un copolímero. El copolímero tiene la fórmula:



en la que: D es



en la que: w es como se definió anteriormente;

en la que:

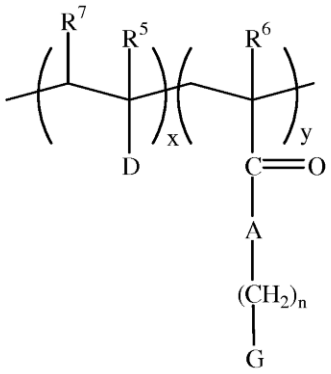
A, R^1, n, G y R^8 son como se definieron anteriormente;

R^5, R^6 y R^7 son independientemente H o alquilo de 1 a 6, o de 1 a 5, o de 1 a 4, o de 1 a 3, o de 1 a 2, o de 2 a 6, o de 2 a 5, o de 2 a 4, o 2 a 3, o 3 a 6, o 3 a 5, o 3 a 4, o 4 a 6, o 4 a 5, o 5 a 6 átomos de carbono, por ejemplo; y

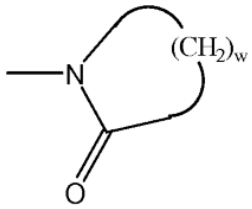
x e y son independientemente 1 a aproximadamente 1000, o 1 a aproximadamente 800, o 1 a aproximadamente 600, o 1 a aproximadamente 400, o 1 a aproximadamente 200, o 1 a aproximadamente 100, o aproximadamente 5 a aproximadamente 1000, o aproximadamente 5 a aproximadamente 800, o aproximadamente 5 a aproximadamente 600, o aproximadamente 5 a aproximadamente 400, o aproximadamente 5 a aproximadamente 200, o aproximadamente 5 a aproximadamente 100, o aproximadamente 10 a aproximadamente 1000, o aproximadamente 10 a aproximadamente 800, o aproximadamente 10 a aproximadamente 600, o aproximadamente 10 a aproximadamente 400, o aproximadamente 10 a aproximadamente 200, o aproximadamente 10 a aproximadamente 100, o aproximadamente 50 a aproximadamente 1000, o aproximadamente 50 a aproximadamente 800, o aproximadamente 50 a aproximadamente 600, o aproximadamente 50 a aproximadamente 400, o aproximadamente 50 a aproximadamente 200, o aproximadamente 50 a aproximadamente 100, o aproximadamente 100 a aproximadamente 1000, o aproximadamente 100 a aproximadamente 800, o aproximadamente 100 a aproximadamente 600, o aproximadamente 100 a aproximadamente 400, o aproximadamente 100 a aproximadamente 200, por ejemplo.

La combinación se somete a condiciones para la unión del miembro del par de unión específico al analito o al segundo miembro del par de unión específico para formar un complejo. El miembro del sistema de producción de señal se activa y se detecta la cantidad del complejo. La cantidad del complejo se relaciona con una o más de la presencia y cantidad de analito en la muestra.

En algunas realizaciones del método anterior, el miembro del sistema de producción de señal de las presentes composiciones es un fotosensibilizador y la combinación comprende además un reactivo quimioluminiscente que comprende una partícula que tiene un compuesto quimioluminiscente que se asocia a la misma y que tiene un recubrimiento de un copolímero de la fórmula:



en la que: D es

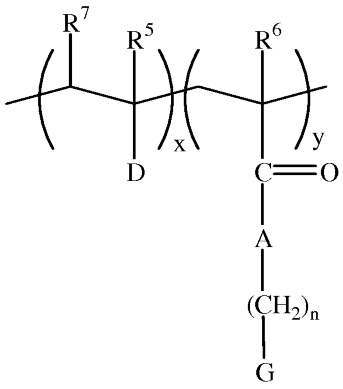


en la que: w es como se definió anteriormente;

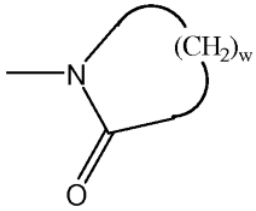
en la que:

A, R^1, n, G, R^8, R^5, R^6, R^7, x e y son como se definieron anteriormente.

En algunas realizaciones del método anterior, el miembro del sistema de producción de señales de las presentes composiciones es un compuesto quimioluminiscente y la combinación comprende además un reactivo fotosensibilizador que comprende una partícula que tiene un fotosensibilizador que se asocia y que tiene un recubrimiento de un copolímero de la fórmula:



en la que: D es



en la que: w es como se definió anteriormente;

en la que:

A, R^1, n, G, R^8, R^5, R^6, R^7, x e y son como se definieron anteriormente.

Etapa de examen

En una etapa siguiente de un método de ensayo, el medio se examina para detectar la presencia de un complejo que comprende el analito. Una o ambas, la presencia y la cantidad del complejo indican una o ambas, la presencia y la cantidad del analito en la muestra.

La expresión "medir la cantidad de analito" se refiere a la determinación cuantitativa, semicuantitativa y cualitativa del analito. Los métodos que son cuantitativos, semicuantitativos y cualitativos, así como todos los otros métodos para determinar el analito, se consideran métodos para medir la cantidad del analito. Por ejemplo, se considera que un método, que detecta implemente la presencia o ausencia del analito en una muestra que se sospecha que contiene el analito, se incluye dentro del alcance de los ensayos en los que se pueden usar las presentes composiciones. Los términos "detectar" y "determinar", así como otros sinónimos comunes de medir, se contemplan dentro del alcance de los métodos de ensayo.

En muchas realizaciones, el examen del medio implica la detección de una señal del medio. Una o ambas, la presencia y la cantidad de la señal se relacionan con una o ambas, la presencia y la cantidad del analito en la muestra. El modo particular de detección depende de la naturaleza del sistema de producción de señal. Como se discutió anteriormente, existen numerosos métodos mediante los cuales un marcador de un sistema de producción de señal puede producir una señal detectable por medios externos. La activación de un sistema de producción de señal depende de la naturaleza de los miembros del sistema de producción de señal.

Las temperaturas durante las mediciones varían generalmente de aproximadamente 10 ° a aproximadamente 70 °C, o de aproximadamente 20 ° a aproximadamente 45 °C, o de aproximadamente 20 ° a aproximadamente 25 °C, por ejemplo. En un enfoque, las curvas estándar se forman usando concentraciones conocidas del analito. Los calibradores y otros controles se pueden usar también.}

La luminiscencia o luz que se produce a partir de cualquier marcador se puede medir visualmente, fotográficamente, actinométricamente, espectrofotométricamente o por cualquier otro medio conveniente para determinar la cantidad de la misma, que se relaciona con la cantidad de analito en el medio. El examen para una o ambas, la presencia y cantidad de la señal incluye también la detección de la señal, que por lo general es simplemente un paso en el que se lee la señal. La señal se lee normalmente con un instrumento, cuya naturaleza depende de la naturaleza de la señal. El instrumento puede ser un espectrofotómetro, un fluorómetro, un espectrómetro de absorción, un luminómetro o un quimioluminómetro, por ejemplo.

Kits que comprenden reactivos para realizar ensayos

Las realizaciones de las presentes composiciones y otros reactivos para llevar a cabo un ensayo particular para un analito se pueden presentar en un kit útil para realizar de forma conveniente un ensayo para la determinación de un analito. En algunas realizaciones, un kit comprende, en combinación empaquetada una, composición de acuerdo con las presentes realizaciones en la que el miembro sbp es un anticuerpo para un analito y el miembro sps es un fotosensibilizador o un compuesto quimioluminiscente. En algunas realizaciones, dependiendo del miembro sps de las presentes composiciones, el kit incluye también un fotosensibilizador o un compuesto quimioluminiscente que se asocia con un miembro sbp para el analito. El kit puede incluir además otros reactivos para realizar el ensayo, cuya naturaleza depende del formato de ensayo particular.

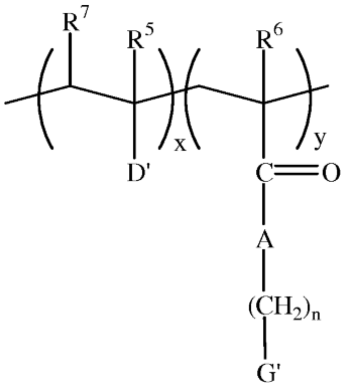
Cada uno de los reactivos pueden estar en recipientes separados o varios reactivos se pueden combinar en uno o más recipientes dependiendo de la reactividad cruzada y la estabilidad de los reactivos. El kit puede incluir además otros reactivos empaquetados por separado para llevar a cabo un ensayo, tal como miembros sbp adicionales, miembros sps y reactivos auxiliares, por ejemplo.

Las cantidades relativas de los diversos reactivos en los kits se pueden variar ampliamente para proporcionar concentraciones de los reactivos que optimicen sustancialmente las reacciones que necesitan producirse durante los presentes procedimientos y además optimicen sustancialmente la sensibilidad de un ensayo. En circunstancias apropiadas, uno o más de los reactivos en el kit se pueden proporcionar como un polvo seco, liofilizado generalmente, que incluye excipientes que, al disolverse, proporcionarán una solución de reactivo que tiene las concentraciones apropiadas para realizar un método o ensayo usando realizaciones de las presentes composiciones. El kit puede incluir además una descripción escrita de un método como se describió anteriormente.

Realizaciones de copolímeros

Las siguientes realizaciones de copolímeros son a modo de ilustración y no de limitación.

En algunas realizaciones, un copolímero tiene la fórmula:

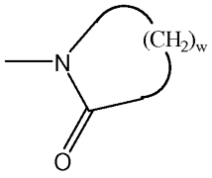


en la que:

A es NR^1 en la que R^1 es H o alquilo de 1 a 6, o de 1 a 5, o de 1 a 4, o de 1 a 3, o de 1 a 2, o de 2 a 6, o de 2 a 5, o de 2 a 4, o 2 a 3, o 3 a 6, o 3 a 5, o 3 a 4, o 4 a 6, o 4 a 5, o 5 a 6 átomos de carbono, por ejemplo;

n es 1 a 10, o 1 a 9, o 1 a 8, o 1 a 7, o 1 a 6, o 1 a 5, 1 a 4, o 1 a 3, o 1 a 2, o 2 a 10, o 2 a 9, o 2 a 8, o 2 a 7, o 2 a 6, o 2 a 5, 2 a 4, o 2 a 3, o 3 a 10, o 3 a 9, o 3 a 8, o 3 a 7, o 3 a 6, o 3 a 5, o 3 a 4, o 4 a 10, o 4 a 9, o 4 a 8, o 4 a 7, o 4 a 6, o 4 a 5, o 5 a 10, o 5 a 9, o 5 a 8, o 5 a 7, o 5 a 6, o 6 a 10, o 6 a 9, o 6 a 8, o 6 a 7, o 7 a 10, o 7 a 9, o 7 a 8, u 8 a 10, u 8 a 9, o 9 a 10, por ejemplo; y G' es CHO; $CH(OR^8)_2$ en la que R^8 es alquilo de 1 a 6, o de 1 a 5, o de 1 a 4, o de 1 a 3, o de 1 a 2, o de 2 a 6, o de 2 a 5, o de 2 a 4, o 2 a 3, o 3 a 6, o 3 a 5, o 3 a 4, o 4 a 6, o 4 a 5, o 5 a 6 átomos de carbono, por ejemplo;

D' es



en la que: w es 2-4, o 2-3, o 3-4, o 2, o 3, o 4;

R^5, R^6 y R^7 son independientemente H o alquilo de 1 a 6, o de 1 a 5, o de 1 a 4, o de 1 a 3, o de 1 a 2, o de 2 a 6, o de 2 a 5, o de 2 a 4 , o 2 a 3, o 3 a 6, o 3 a 5, o 3 a 4, o 4 a 6, o 4 a 5, o 5 a 6 átomos de carbono, por ejemplo; y x e y son independientemente 1 a aproximadamente 1000, o 1 a aproximadamente 800, o 1 a aproximadamente 600, o 1 a aproximadamente 400, o 1 a aproximadamente 200, o 1 a aproximadamente 100, o aproximadamente 5 a aproximadamente 1000, o aproximadamente 5 a aproximadamente 800, o aproximadamente 5 a aproximadamente 600, o aproximadamente 5 a aproximadamente 400, o aproximadamente 5 a aproximadamente 200, o aproximadamente 5 a aproximadamente 100, o aproximadamente 10 a aproximadamente 1000, o aproximadamente 10 a aproximadamente 800, o aproximadamente 10 a aproximadamente 600, o aproximadamente 10 a aproximadamente 400, o aproximadamente 10 a aproximadamente 200, o aproximadamente 10 a aproximadamente 100, o aproximadamente 50 a aproximadamente 1000, o aproximadamente 50 a aproximadamente 800, o aproximadamente 50 a aproximadamente 600, o aproximadamente 50 a aproximadamente 400, o aproximadamente 50 a aproximadamente 200, o aproximadamente 50 a aproximadamente 100, o aproximadamente 100 a aproximadamente 1000, o aproximadamente 100 a aproximadamente 800, o aproximadamente 100 a aproximadamente 600, o aproximadamente 100 a aproximadamente 400, o aproximadamente 100 a aproximadamente 200, por ejemplo.

En algunas realizaciones del copolímero anterior:

A es NH;

n es 1;

G es CHO; $CH(OR^8)_2$ en la que R^8 es metilo; R^5 y R^6 son independientemente H o metilo y R^7 es H; y

x e y son como se definió anteriormente.

En algunas realizaciones del copolímero anterior:

A es NH;

n es 1;

G es CHO; $CH(OR^8)_2$ en la que R^8 es metilo;

R^5 y R^6 son independientemente H o metilo y R^7 es H; y

x e y son como se definió anteriormente.

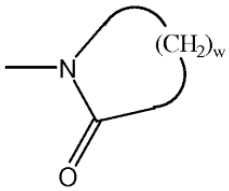
En algunas realizaciones del copolímero anterior:

A es NH;

n es 1;

G' es CHO; $CH(OR^8)_2$ en la que R^8 es metilo;

D' es



en la que: w es 3;

R^5 y R^6 son independientemente H o metilo y R^7 es H; y

x e y son independientemente 1 a 1000.

Definiciones

Las siguientes definiciones se proporcionan para términos y expresiones que no se han definido de manera específica alguna anteriormente.

La expresión "al menos" como se usa aquí significa que la cantidad de elementos que se especifican puede ser igual o mayor que el número que se menciona.

La expresión "aproximadamente", como se usa aquí significa que el número que se menciona puede diferir en más o menos 10%; por ejemplo, "aproximadamente 5" significa un rango de 4.5 a 5.5.

Las designaciones "primero" y "segundo" se usan únicamente con el propósito de diferenciar entre dos elementos tales como, por ejemplo, "primer miembro sps" y "segundo miembro sps", o "primer monómero polimerizado" y "segundo monómero polimerizado" y no se destinan a implicar ninguna secuencia u orden o importancia para un artículo sobre otro o cualquier orden de adición, por ejemplo.

Los siguientes ejemplos describen adicionalmente realizaciones específicas de la invención a modo de ilustración y no de limitación y se destinan a describir y no a limitar el alcance de la invención. Las partes y porcentajes que se divulgan aquí son en volumen, a menos que se indique lo contrario.

Ejemplos

Materiales

A menos que se indique lo contrario, los reactivos se compraron de Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI) y se usaron como se recibieron a menos que se indique lo contrario.

Abreviaturas

cTnI	Troponina cardíaca I
cTnI flex	Cartucho FLEX® de ensayo cTnI comercial de Siemens
BSA	Albúmina sérica bovina
LOCI	Inmunoensayo de canalización de oxígeno luminiscente
HEPES	Ácido hidroxietil piperazina-etanosulfónico
Regulador de lavado	HEPES 50 mM, pH 8.0
Regulador de lavado BSA	HEPES 50 mM -1.0 mg/mL BSA, pH 8.0
HPMA	N-2-hidroxipropilmetacrilamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
AIBIN	azobis(isobutironitrilo)
PEG	poli(etilen glicol)
NaCNBH3	Cianoborohidruro de sodio
MAMDMA	Metacrilamidoacetaldehído dimetilacetal
THF	Tetrahidrofurano
HCl	Ácido clorhídrico
NaOH	Hidróxido de sodio
TAPS	Ácido N-tris-(hidroximetil)metil-3-aminopropilsulfónico
Regulador TAPS	Regulador de sal de sodio TAPS, 50 mM, pH 9,0
MES	Ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico
Regulador MES	Regulador MES 50 mM, pH 5.0
STUT	Tetrafluoroborato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(N-succinimidil)-uronio
DMF	Dimetilformamida
DMAP	4-N,N-dimetilamino-piridina
MA.Actl	Metacrilamidoacetaldehído
NHA	4,4,5,5,6,6,6-heptafluoro-1-(naftalen-2-il)hexano-1,3-diona
DPP	4,7-difenil-1,10-fenantrolina

Tioxeno C-28	Tioxeno C-28, N-fenilo oxazina sustituida y tioxeno que se unen a 9,10-bis(feniletinil) antraceno (BPEA) que se preparan como se describe en la Patente de Estados Unidos Nº 6.406.667
hrs	Horas
min	Minutos
DI	Desionizado
w/w	Peso a peso
rpm	revoluciones por minuto
ml.	Milímetros
mg	Miligramos
g	Gramos
mM	Milimoles
Perlas Sensitivas	Partículas de látex que comprenden un colorante fotosensibilizador (bis-(trihexil)-silicio-t-butil-ftalocianina) que se prepara mediante un método de forma análoga al que se describe en las patentes de Estados Unidos números 6.153.442, 7.022.529, 7.229.842 y la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos Nº 20050118727A.

Perlas Químicas Partículas de látex que comprenden un compuesto quimioluminiscente (mezcla de europio DPP NHA y tioxeno C-28) que se prepara de una manera tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos Núm. 5.811.311.

Preparación de reactivos

Síntesis de MAMDMA (Figura 1): Se colocaron ácido metacrílico (9,0 g, 0,1 moles) y N-hidroxisucinimida (11,5 g, 0,1 moles) en un matraz de fondo redondo y se disolvieron en 300 ml de THF. La solución se enfrió en un baño de hielo. Se añadió diciclohexilcarbodiimida (21,0 g, 0,1 mol) disuelto en 50 ml de THF. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas en un baño de hielo. Se añadieron dimetilacetal de aminoacetaldehído (15,0 g, 0,1 moles) y trietilamina (15,0 g, 0,15 moles). La mezcla de reacción se solidificó en una torta y se hizo difícil de agitar debido a esta adición. Se añadieron 300 ml adicionales de THF. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 3 días. La mezcla de reacción se filtró para eliminar los sólidos precipitados. La solución clara se concentró a presión reducida. Se obtuvo MAMDMA como un líquido viscoso. Rendimiento: 20.0 g, 90%. ^{1}H RMN ($CDCl_3$): 5,4 δ 1H, 5,6 δ 1H (protones de enlace doble), 3,5 δ 6H (protones de acetal) 3,1 δ 1H (-C<u>H</u>-$(OCH_3)_2$), 2,5 δ 2H (-CH_2-CH-), 2,3 δ 1H (-NH-), 1,8 δ 3H (= C-CH_3).

Procedimiento para la polimerización de MAMDMA con una variedad de monómeros hidrófilos (Figura 2): Se disolvieron en 30 ml de DMSO en un matraz de fondo redondo que se equipa con entrada y salida de gas argón, MAMDMA (0,01 M), monómero hidrófilo (0,01 moles) y AIBN (0,0001 mol, [Monómero] / [AIBN] = 200). El gas argón se purgó a través de la solución de DMSO a temperatura ambiente durante 30 minutos. El matraz que contenía la solución de monómero se sumergió en un baño de aceite que se precalienta a 80°C. La polimerización se realizó a 80°C durante 16 horas bajo purga de argón. La solución de DMSO se vertió en 700 ml de éter dietílico para precipitar el polímero. El polímero se disolvió en 100 ml de agua y se concentró a 10-15 ml usando una membrana de ultrafiltración de peso molecular cortado a 5.000 daltons.

Procedimiento para la hidrólisis de grupos acetales para obtener copolímeros sintéticos que contienen aldehídos: Se tomó una solución acuosa (100 ml) que contenía 2-3 g de copolímero sintetizado en un matraz Erlenmeyer, como anteriormente. A esto, se añadieron 100 ml de HCl 1N. La solución ácida se agitó durante 2 días a temperatura ambiente; El pH de la solución se ajustó a 5,0 con la adición de NaOH concentrado. La presencia de grupos aldehído en el copolímero se confirmó cualitativamente mediante el ensayo de purpald (Dickinson, RG; Jacobsen, NW, Chemical Communications, página 1719 (1970). La solución de copolímero se concentró a 10 ml usando una membrana de ultrafiltración de peso molecular cortado a 5.000 daltons. Las soluciones de polímeros acuosos (100-150 mg sólidos / mL) se almacenaron a 4 ° C.

Procedimiento para la preparación de perlas sensibles que se recubren con copolímeros sintéticos que contienen aldehído: Se tomó en un tubo Falcon una solución acuosa de copolímero que contiene aldehído (5 ml, pH 5,0, 100-150 mg sólidos / ml). El pH de la solución se ajustó a 8.5. A esta solución se añadió 1 ml de suspensión de perlas sensibles teñidas recubiertas de hidrazida (25 mg / ml de sólidos, pH 9,0). Las perlas se recubrieron con hidrazida por reacción de perlas con hidrazina en presencia de STUT a pH 9,0, de una manera similar a la que se describe a continuación para el recubrimiento de perlas químicas con hidrazida. La mezcla de reacción se incubó a 50°C durante 72 horas con agitación suave. Las perlas que se recubren con polímero se lavaron dos veces con agua por

centrifugación a 15,000 rpm durante 30 minutos a 15ºC y luego se resuspendieron en agua dulce. Las perlas que se recubren con polímero se suspendieron en 2 ml de regulador de acetato 0,1 M, pH 5,0. A esto, se añadió estreptavidina (7,0 mg) y se incubó a temperatura ambiente durante 30 minutos. A esto, se añadió $NaCNBH_3$ (40 mg) y se incubó a 37°C durante 72 horas con agitación suave. Las perlas que se recubren con estreptavidina (perlas sensibles) se lavaron dos veces con regulador de lavado BSA por centrifugación a 15,000 rpm durante 30 min a 15°C y se resuspendieron en el regulador. Las sondas sensibles lavadas se suspendieron por sonicación durante 2 minutos a 4ºC usando un sonicador de sonda. Se determinaron los contenidos sólidos de las perlas sensibles y se ajustaron a 10 mg/ml. El número de estreptavidina por partícula se determinó a partir del agotamiento de la fluorescencia cuando se incubaron diferentes concentraciones de partículas con una concentración fija del conjugado de biotina-fluoresceína. Las perlas sensibles se almacenaron a 4°C a una concentración de 10 mg/ml hasta su uso posterior. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Perla sensible No	Estreptavidina No.
PS 1 Poli(HPMA-co-MA-Actl (1:1)	1150
PS 2 Poli(HPMA-co-MA-Actl (1:2)	5313
PS 3 Poli(HPMA-co-MA-Actl (1:4)	3713
PS 4 Poli(sulfobetaína-co-MA-Actl (1:1)	6274
PS 5 Poli($MPEG_{1100}$-MA-co-MA-Actl (1:1)	1477
PS 6 Poli(AA-co-MA-Actl (1:1)	3211
PS 7 Poli($MPEG_{300}$-MA-co-MA-Actl (1:1)	2188
PS8 Poli(NVP-co-MA-Actl (1:1)	SD

Preparación de perlas químicas recubiertas con copolímero sintético.

Etapa 1: Preparación de perlas químicas que se tiñen con recubrimiento de hidrazida: se tomó una suspensión de perlas químicas (15 ml, 1,046 g de partículas) en un matraz de fondo redondo. A esto, se añadieron 37 ml de regulador TAPS 300 mM pH 9.0 para preparar 20 mg/ml de suspensión de partículas. Se añadió hidrazina (0,1 ml) y el electrodo de pH se sumergió en la suspensión de partículas y se agitó a temperatura ambiente. A esto, se añadieron 100 mg de STUT (recién disuelto en 1 ml de DMF) seguido de la adición de 0,25 ml de solución de DMF de DMAP (100 mg / ml). La mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos y el pH se ajustó a 9,0 con la adición de NaOH 5N. La adición de STUT y DMAP se repitió 4 veces y la suspensión de partículas se agitó durante 1 hora adicional. Las perlas químicas que se tiñen con recubrimiento de hidrazida, se lavaron dos veces con regulador TAPS 1 mM, pH 9,0, mediante centrifugación a 15,000 rpm, 30 min y 10ºC y se resuspendieron en el regulador. Las partículas lavadas se suspendieron en 17 ml de regulador TAPS 1 mM, pH 9,0. El contenido de sólidos fue 41.23 mg/mL.

Eatpa 2: Preparación de perlas químicas que se tiñen con recubrimiento de poli(HPMA-co-MA-Actl (1:2)): Se tomó en un tubo Falcon de 15 mL la suspensión anterior de perlas químicas que se recubren con hidrazida (0,6 ml, 25 mg de perlas). Se tomó en otro tubo Poli(HPMA-co-MA-Actl (1:2, Figura 2) (3 ml, pH 5,0, contenido de sólidos 24,7 mg/ml) y se ajustó el pH a 8,8. Se mezclaron juntas la solución de polímero de pH 8,8 y la suspensión de perlas que se recubren con hidrazida de pH 9.0 y se incubaron a 37ºC durante 50 horas con agitación suave. Las perlas que se recubren con polímero (CB 2) se lavaron dos veces con regulador MES 50 mM, pH 6,0, por centrifugación a 15,000 rpm, 30 min., 10°C y se resuspendieron en el regulador MES. Las perlas que se lavaron se resuspendieron en 0,25 ml de regulador MES por sonicación usando un sonicador de sonda.

Eatpa 3: Preparación de la perla química recubierta con anticuerpo de captura: Se intercambió el anticuerpo de captura cTnI con regulador con 10 mM PO_4 – NaCl 300 mM, pH 7,0 que contenía 0,2% de TWEEN 20®. La concentración de anticuerpo que se intercambió con regulador fue de 7,7 mg/ml. Se mezclaron conjuntamente la solución de anticuerpo de captura cTnI (1 ml, 7,7 mg de anticuerpo), perlas químicas que se recubren con poli(HPMA-co-MA-Actl (1:2) (0,25 ml, 25 mg de perlas), ácido acético (0,4 µl) a 4°C. La mezcla tenía un pH de 5,7, se añadió $NaCNBH_3$ (12 µl, 25 mg/ml) y la suspensión se incubó a 4°C durante 16 horas con agitación suave. Las partículas se incubaron luego a 37°C durante 24 horas. Las perlas químicas que se recubren se lavaron dos veces con regulador de lavado (pH 8,0) por centrifugación a 15,000 rpm, 30 min, 10ºC y se resuspendieron en el regulador de lavado. Las partículas que se lavaron se resuspendieron en 1 ml de regulador de lavado BSA (pH 8,0) mediante sonicación con un sonicador de sonda. El contenido de sólidos fue de 13.37 mg/mL.

Caracterización del peso molecular de copolímeros sintéticos que contienen aldehídos: Los polímeros se caracterizaron por cromatografía de exclusión por tamaño acoplada con dispersión de la luz. Los datos que se obtuvieron se resumen en la Tabla 2. Todos los polímeros sintéticos se sintetizaron por polimerización de radicales libres convencional que se sabe produce polímeros con una gran polidispersidad. Los datos en la Tabla 2 muestran también que los copolímeros que contienen aldehídos se polidispersaban. Los picos que se mencionan en la Tabla 2 para los polímeros no son estrictamente bimodales sino más bien se desconvolucionan a partir de un pico gaussiano ancho presente para cada polímero como se determina usando el software Astra (Wyatt Technology Corporation, Santa Barbara CA) del detector de dispersión de la luz. El peso molecular de los picos predominantes en las muestras de polímero varió de 25 kDa a 3300 kDa dependiendo de la estructura monomérica individual y su polimerización.

Tabla 2

Caracterización del peso molecular de copolímeros que contienen aldehídos			
PS No	Polímero	Índice de pico 1 MW (Da) de polidispersidad % de Masa	Índice de pico 2 MW (Da) de polidispersidad % de Masa
1	Poli(HPMA-co-MA-Actl (1:1)	120.200 1,13 29,6	40.330 1,10 73,1
2	Poli(HPMA-co-MA-Actl (1:2)	68.070 1,08 27,1	26.940 1,09 72,9
3	Poli(HPMA-co-MA-Actl (1:4)	No determinado. Polímero gelificado antes de realizar análisis	
4	Poli(sulfobetaína-co-MA-Actl (1:1)	467.400 1,44 64,5	86.560 1,09 35,5

5	Poli(MPEG$_{1100}$-MA-co-MA-Actl (1:1)	3.353.000 2,12 100	- - -
6	Poli(AA-co-MA-Actl (1:1)	47.980 1,13 21,4	14.200 1,17 78,6
7	Poli(MPEG$_{300}$-MA-co-MA-Actl (1:1)	1.447.000 1,062 100	- - -
8	Poli(NVP-co-MA-Actl (1:1)	399.200 2,18 26,8	38.340 1,09 73,2

ENSAYOS

Procedimiento general para el ensayo cTnI usando perlas sensibles que se recubren con realizaciones de los presentes copolímeros: Todos los ensayos se realizaron en un instrumento DIMENSION® VISTA® (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark DE) (Siemens). En resumen, se perforó la tapa de la caja #8 de un cartucho comercial cTnI flexible (catálogo #K6421de Siemens Healthcare Diagnostics). El producto comercial cTnI usa tecnología y reactivos LOCI. Se aspiró la suspensión de la perla sensible que se recubre con dextrano del producto comercial y se añadió a la caja limpia la suspensión de la perla sensible que se recubre con copolímero (0,7 ml, 1,5 mg perla sensible / ml de regulador de lavado BSA). El ensayo cTnI se ejecutó usando calibradores como muestras de acuerdo con las instrucciones del fabricante que se suministraron con el producto. No se llevó a cabo ninguna optimización para los parámetros del instrumento, ni las formulaciones de regulador o la concentración de reactivos que se emplearon. Los resultados de los ensayos se resumen a continuación en la Tabla 3 (PS 1), Tabla 4 (PS 2), Tabla 5 (PS 3), Tabla 6 (PS 4), Tabla 7 (PS 5), Tabla 8 (PS 6), Tabla 9 (PS 7) y Tabla 10 (PS 8).

Tabla 3

Ensayos usando PS 1 Señal LOCI (conteos k)							
Calibrador	ng/mL	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Media	DE	%CV
L1	0,00	6,67	6,69	6,61	6,66	0,04	0,6%
L2	0,48	19,96	20,15	19,68	19,93	0,24	1,2%
L3	4,30	20,15	182,15	182,22	183,17	1,66	0,9%
L4	8,40	182,21	421,13	423,99	421,25	2,68	0,6%
L5	20,70	418,64	1313,21	1334,42	1329,16	14,08	1,1%
L6	42,90	1339,86	2825,92	2854,27	2842,91	14,99	0,5%

Tabla 4

Ensayos usando PS 2 Señal LOCI (conteos k)							
Calibrador	ng/mL	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Media	DE	%CV
L1	0,00	3,46	3,46	3,31	3,41	0,09	2,5%
L2	0,48	16,18	16,17	16,14	16,16	0,02	0,1%
L3	4,30	168,59	168,17	168,73	168,50	0,29	0,2%
L4	8,40	381,76	383,77	387,01	384,18	2,65	0,7%
L5	20,70	1191,47	1188,01	1193,07	1190,85	2,59	0,2%
L6	42,90	2580,13	2556,88	2557,88	2564,96	13,14	0,5%

Tabla 5

Ensayos usando PS 3 Señal LOCI (conteos k)							
Calibrador	ng/mL	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Media	DE	%CV
L1	0,00	20,6	20,47	20,24	20,44	0,18	0,9%
L2	0,48	57,25	61,08	55,35	57,89	2,92	5,0%
L3	4,30	427,97	417,57	419,15	421,56	5,60	1,3%
L4	8,40	875,66	870,74	879,83	875,41	4,55	0,5%
L5	20,70	2153,91	2157,21	2162,87	2158,00	4,53	0,2%
L6	42,90	3655,09	3603,63	3639,14	3632,62	26,34	0,7%

Tabla 6

Ensayos usando PS 4 Señal LOCI (conteos k)							
Calibrador	ng/mL	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Media	DE	%CV
L1	0,00	3,5	3,12	3,09	3,24	0,23	7,1%
L2	0,48	8,87	8,72	9,02	8,87	0,15	1,7%

L3	4,30	74,68	73,61	73,33	73,87	0,71	1,0%
L4	8,40	167,6	170,81	167,73	168,71	1,82	1,1%
L5	20,70	538,68	533,22	538,89	536,93	3,21	0,6%
L6	42,90	1254,19	1241,71	1232,78	1242,89	10,75	0,9%

Tabla 7

Ensayos usando PS 5 Señal LOCI (conteos k)							
Calibrador	ng/mL	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Media	DE	%CV
L1	0,00	5,96	5,98	5,7	5,88	0,16	2,7%
L2	0,48	6,2	6,35	6,2	6,25	0,09	1,4%
L3	4,30	12,79	12,42	12,42	12,58	0,19	1,5%
L4	8,40	20,32	20,52	20,52	20,52	0,20	1,0%
L5	20,70	52,09	52,27	52,27	52,44	0,46	0,9%
L6	42,90	121,84	121,2	121,59	121,59	0,34	0,3%

Tabla 8

Ensayos usando PS 6 Señal LOCI (conteos k)							
Calibrador	ng/mL	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Media	DE	%CV
L1	0,00	19,59	19,79	18,24	19,21	0,84	4,4%
L2	0,48	26,82	24,69	26,71	26,07	1,20	4,6%
L3	4,30	81,16	83,34	79,84	81,45	1,77	2,2%
L4	8,40	153,17	142,64	144,11	146,64	5,70	3,9%
L5	20,70	367,98	370,68	329,42	356,03	23,08	6,5%
L6	42,90	685	625,57	677,17	662,58	32,29	4,9%

Tabla 9

Ensayos usando PS 7 Señal LOCI (conteos k)							
Calibrador	ng/mL	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Media	DE	%CV
L1	0,00	4,25	4,29	4,72	4,42	0,26	5,9%
L2	0,48	5,37	5,73	5,51	5,54	0,18	3,3%
L3	4,30	19,8	19,47	19,91	19,73	0,23	1,2%
L4	8,40	40,74	40,55	41,37	40,89	0,43	1,0%
L5	20,70	126,38	125,28	123,42	125,03	1,50	1,2%
L6	42,90	317,63	316,63	319,54	317,97	1,43	0,5%

Tabla 10

Ensayos usando PS 8 Señal LOCI (conteos k)							
Calibrador	ng/mL	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Media	DE	%CV
L1	0,00	3,55	3,45	3,8	3,60	0,18	5,0%
L2	0,48	9,06	9,07	8,61	8,91	0,26	2,9%
L3	4,30	66,07	65,5	66,3	65,96	0,41	0,6%
L4	8,40	144,2	146	145,83	145,34	0,99	0,7%
L5	20,70	386,51	390,04	383,37	386,64	3,34	0,9%
L6	42,90	727,9	740,82	730	732,91	6,93	0,9%

Procedimiento general para el ensayo cTnI usando PS 2 y PQ 2: Todos los ensayos se realizaron en un instrumento DIMENSION® VISTA® (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark DE) (Siemens). En resumen, se perforó la tapa de la caja #8 de un cartucho comercial cTnI flexible. Se aspiró la suspensión de la perla sensible que se recubre con dextrano y se añadió a la caja limpia la suspensión PS 2 (0,7 ml, 1,5 mg PS 2/ml de regulador de lavado BSA). Además, se reemplazaron las perlas químicas del producto comercial cTnI con PQ 2 (0,9 ml, 0,19 mg de PQ 2/ml de regulador de lavado BSA). El ensayo cTnI se ejecutó usando calibradores como muestras de acuerdo con las instrucciones del fabricante que se suministran con el producto. No se llevó a cabo ninguna optimización para los parámetros del instrumento, las formulaciones de regulador o la concentración de reactivos que se emplearon. Los resultados de los ensayos se resumen a continuación en la Tabla 11.

Tabla 11

Ensayos usando PS 2 y PQ 2 Señal LOCI (conteos k)							
Calibrador	ng/mL	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Media	DE	%CV
L1	0,00	15,84	15,86	16,11	15,94	0,15	0,9%
L2	0,48	17,8	17,3	17,91	17,67	0,33	1,8%
L3	4,30	39,62	40,2	39,35	39,72	0,43	1,1%
L4	8,40	70,01	68,5	66,93	68,48	1,54	2,2%
L5	20,70	176,42	177,26	178,42	177,37	1,00	0,6%
L6	42,90	370,14	379,3	381,45	376,96	6,01	1,6%

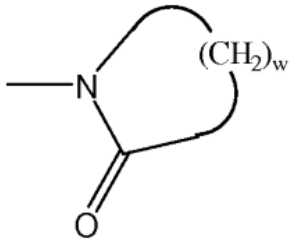
REIVINDICACIONES

1. Una composición para uso como un reactivo de ensayo, comprendiendo la composición:

un soporte sólido que comprende un marcador que es un miembro de un sistema de producción de señales y un recubrimiento de un copolímero sintético en la que el copolímero sintético comprende

un primer monómero copolimerizado que comprende una unidad estructural pendiente que es -C(O)-A-$(CH_2)_n$-G en la que R^1 es H o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono y n es 1 a 10 y en la que G es CHO o $CH(OR^8)_2$ en la que R^8 es alquilo de 1 a 6 átomos de carbono; y

un segundo monómero copolimerizado que comprende una unidad estructural pendiente de la fórmula



en la que: w es 2-4.

2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el soporte sólido es una partícula.

3. La composición de acuerdo con la reivindicación 2, en la que la partícula es una partícula de látex.

4. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el miembro del sistema de producción de señales es seleccionado del grupo consistente en compuestos sensibilizadores y quimioluminiscentes.

5. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el copolímero comprende un esqueleto polietilénico.

6. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la unidad estructural pendiente del primer monómero copolimerizado es -C(O)-NH-$(CH_2)_n$-CHO o -C(O)-NH-$(CH_2)_n$-$CH(OCH_3)_2$ en la que n es 1 y en la que w es 3 en la unidad estructural pendiente del segundo monómero copolimerizado.

7. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que un miembro de un par de unión específico está asociado con el soporte sólido.

8. Un método para determinar en una muestra la presencia y/o cantidad de un analito, comprendiendo el método:

(a) proporcionar en combinación en un medio:

(i) la muestra, y

(ii) la composición de acuerdo con la reivindicación 7 en la que el miembro del par específico de unión (sbp) se une al analito o a un segundo miembro sbp para formar un complejo relacionado con la presencia del analito,

(b) someter la combinación a condiciones para la unión del analito a la composición para formar un complejo, y

(c) activar el miembro del sistema de producción de señal y detectar la cantidad del complejo, relacionándose la cantidad del complejo con la presencia y/o cantidad de analito en la muestra.

Figura 1

Síntesis de MAMDMA

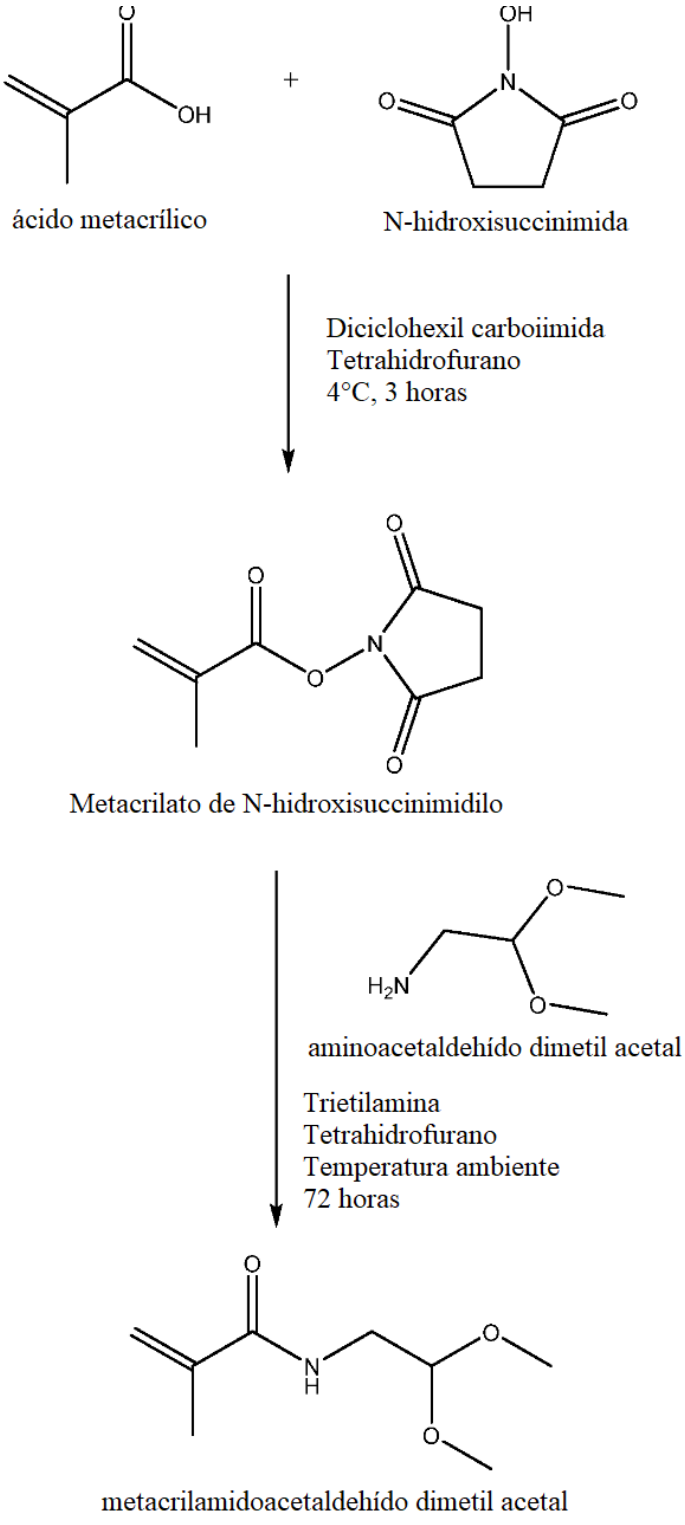
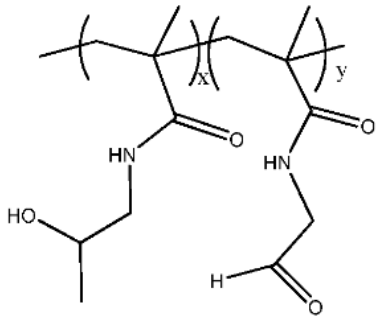
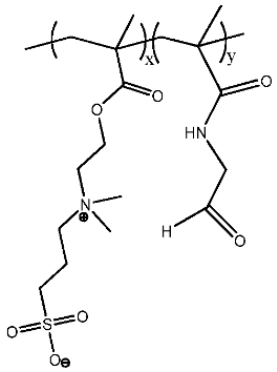
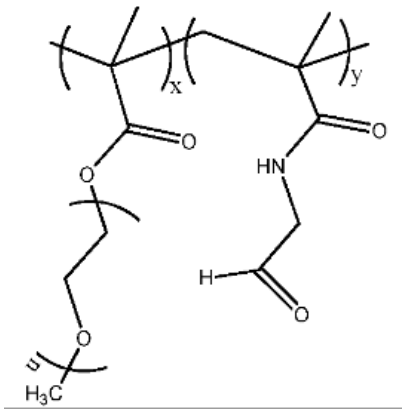
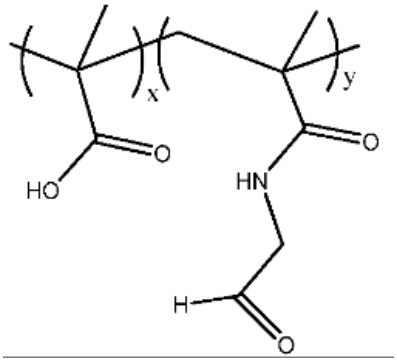
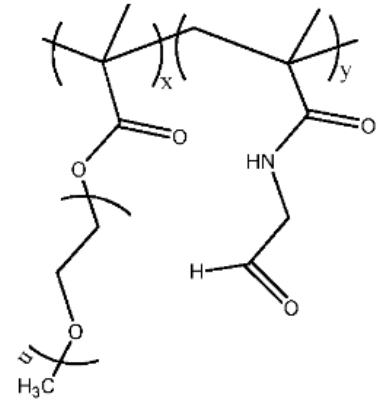
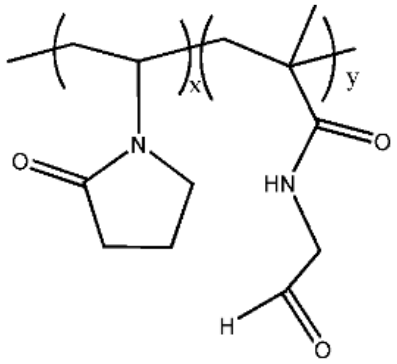


Figura 2

Relaciones de transmisión de monómeros hidrófilos: MAMDMA y estructuras de copolímeros

PS No	Polímero	Estructura
1	Poli(HPMA-co-MA-Actl (1:1) *HPMA = N-2-hidroxipropilmetacrilamida* *MA-Actl = Metacrilamidoacetaldehído*	
2	Poli(HPMA-co-MA-Actl (1:2)	Igual que1 excepto las proporciones de monómero
3	Poli(HPMA-co-MA-Actl (1:4)	Igual que1 excepto las proporciones de monómero
4	Poli(Sulfobetaína-co-MA-Actl (1:1) *Sulfobetaína = [2-metacriloiloxietil]-dimetil (3-sulfopropil) hidróxido de amonio*	
5	Poli(MPEG$_{1100}$-MA-co-MA-Actl (1:1) *MPEG1$_{1100}$= Metoxi-polietilenglicol$_{1100}$-metacrilato*	

6	Poli(AA-co-MA-Actl (1:1) *AA = Ácido Acrílico*	
7	Poli($MPEG_{300}$-MA-co-MA-Actl (1:1) *$MPEG_{300}$-MA = Metoxipolietilenglicol$_{300}$-metacrilato*	
8	Poli(NVP-co-MA-Actl (1:1) *NVP = N-vinil-2-pirrolidona*