



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 362 194**

51 Int. Cl.:
B01L 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06722997 .1**

96 Fecha de presentación : **01.02.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **1866090**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **19.12.2007**

54 Título: **Portaobjetos para micromatrices poliméricas de alto rendimiento.**

30 Prioridad: **01.02.2005 US 649242 P**
29.01.2006 US 275784

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
29.06.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
29.06.2011

73 Titular/es: **Greiner Bio-One GmbH**
Maybachstrasse 2
72636 Frickenhausen, DE

72 Inventor/es: **Jehle, Heinrich**

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 362 194 T3

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

DESCRIPCIÓN

Portaobjetos para micromatrices poliméricas de alto rendimiento

Campo de la invención

5 El campo de la invención se refiere de manera general a portaobjetos para micromatrices, y más particularmente a portaobjetos poliméricos utilizados en ensayos biomoleculares, y a métodos de preparación de los mismos.

Antecedentes de la invención

10 Las micromatrices para ensayos biomoleculares típicamente se forman en portaobjetos de vidrio. Las matrices pueden formarse de ADN (u otras formas polinucleótidas tales como ADNc o ARN). El ADN en la matriz puede sintetizarse sobre el portaobjetos de vidrio, o dispensarse robóticamente sobre el portaobjetos en un formato de matriz.

15 Los portaobjetos de vidrio han sido el sustrato de elección para las micromatrices debido a que el vidrio presenta propiedades estructurales, ópticas y químicas deseables. Por ejemplo, el vidrio presenta suficiente rigidez y dureza para mantener una planitud uniforme y para resistir una flexión no deseada. Además, el vidrio muestra un fondo fluorescente muy reducido en los intervalos de longitud de onda de excitación y de emisión más relevantes para los ensayos biomoleculares. Finalmente, el vidrio es químicamente resistente a los reactivos utilizados generalmente en los ensayos biomoleculares. En la fig. 1 se muestra un portaobjetos de vidrio típico.

25 Sin embargo, los portaobjetos de vidrio presentan varias desventajas significativas. El vidrio es frágil y puede romperse al someterlo a impactos no deseados tales como los procedentes del equipo de dispensación. Además, los portaobjetos de vidrio no permiten aplicaciones de alto rendimiento debido a que un portaobjetos de vidrio permite alojar un único sitio de ensayo. Ello se debe a que no existen barreras físicas en el portaobjetos para evitar la contaminación cruzada de múltiples sitios de ensayo. Por consiguiente, en muchos casos la mayor parte de la superficie de un portaobjetos de vidrio acaba no utilizándose, especialmente en matrices de densidad baja e intermedia.

30 La patente US nº 2004/0029303 da a conocer una matriz biomolecular con compartimientos discretos rellenos con una sustancia porosa para unirse a las dianas químicas. Los compartimientos pueden aislarse ópticamente con una capa reflectante y recubrirse con un recubrimiento hidrofóbico, por ejemplo una cera orgánica o un reactivo activo en superficie, para impedir la extensión de los reactivos acuosos.

35 Por lo tanto, existe una necesidad de un portaobjetos para micromatriz que supere los problemas anteriormente indicados de los portaobjetos de vidrio y que presente un alto rendimiento, al alojar múltiples sitios de ensayo en un único portaobjetos.

Descripción resumida de la invención

40 El problema tecnológico básico en el que se basa la presente invención es la provisión de un recipiente para muestras analíticas, en particular uno para ensayos biomoleculares, ensayos clínicos y químicos específicos de un paciente, que pueda utilizarse en particular a modo de chip biológico tras inmovilizar las moléculas biológicamente activas, y que supere las desventajas conocidas de la técnica anterior y permita determinar parámetros clínicos rápidos y fiablemente, en el que en particular resulte posible detectar parámetros clínicos/químicos relevantes de modo cuantitativo y sin errores mediante la utilización de tecnología de detección automatizada.

45 La presente invención resuelve el problema técnico subyacente mediante la provisión de un portaobjetos para micromatrices según la reivindicación principal, es decir un portaobjetos para micromatrices que comprende una plataforma polimérica que presenta una superficie superior; una pluralidad de compartimientos sobre la superficie superior, presentando dichos compartimientos un fondo y una pared lateral que se extiende desde dicho fondo, presentando dicho fondo un área superficial medida en milímetros², y presentando dicha pared lateral una altura sobre dicho fondo medida en milímetros, en la que la superficie del fondo de los compartimientos se ha funcionalizado con grupos químicos que permiten la unión de moléculas biológicas, y en la que la proporción entre el valor numérico de dicha área superficial de dicho fondo y el valor numérico de dicha altura de dicha pared lateral es de por lo menos 30, caracterizada porque dicha superficie superior se encuentra recubierta por una capa de aluminio, oro o cromo a modo de material reflectante, y porque dicha capa de material reflectante se encuentra recubierta por una capa de polidimetilsiloxano a modo de recubrimiento protector.

60 La plataforma del chip biológico (micromatriz) según la presente invención comprende una placa de plataforma que presenta por lo menos una cámara de reacción tridimensional, de manera que la cámara de reacción y el volumen de la cámara de reacción, que se encuentra abierta hacia arriba, se encuentran definidos por paredes laterales de cerramiento lateral, en la que la proporción entre el área superficial del fondo y la altura de las paredes laterales es superior o igual a 30, preferentemente superior a 50. El fondo y/o por lo menos una pared lateral de por lo menos

una cámara de reacción se encuentra realizado en forma de una matriz de unión que presenta un grupo funcional que permite la unión a una molécula natural o sintética, en particular a una molécula biológicamente activa.

Más particularmente, en la presente invención la proporción entre el valor numérico del área superficial del fondo, que se expresa en mm², y el valor numérico de la altura de las paredes laterales, que se expresa en mm, medida desde la parte más inferior del fondo preferentemente plano hasta el borde superior de la pared lateral, preferentemente es superior o igual a 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80 ó 90. Preferentemente, la proporción entre el valor numérico del área superficial del fondo y el valor numérico de la altura de las paredes laterales es de entre 30 y 100, y más preferentemente de entre 32 y 80. Todavía más preferentemente, la proporción entre la magnitud del área superficial del fondo y la altura de las paredes laterales es superior o igual a 50. Además, resulta preferible en la práctica que los bordes superiores de las paredes laterales de la cámara de reacción formen la parte más alta de la plataforma del chip biológico.

Por lo tanto, la plataforma del chip biológico de la invención comprende una placa de plataforma y por lo menos una cámara de reacción tridimensional, y la cámara de reacción se construye con una pared del fondo y paredes laterales que comprenden lateralmente el volumen de la cámara de reacción y la cierran, y la cámara de reacción presenta una abertura en la dirección hacia arriba, preferentemente con los mismos área superficial y geometría que el fondo, y la proporción entre el área superficial (S) del fondo y la altura de las paredes laterales, que se indica posteriormente, preferentemente es superior o igual a 30, preferentemente superior a 50.

Por lo tanto, la presente invención proporciona una plataforma de chip biológica sobre la que se dispone por lo menos una cámara o cavidad de reacción, aunque en otras realizaciones preferentes se dispone una pluralidad de cámaras o cavidades de reacción, y la cámara o cámaras de reacción presentan un área superficial del fondo relativamente grande respecto a su altura. En los sistemas de microplaca de la técnica anterior, la proporción entre el área superficial del fondo de la cavidad y su altura es inferior a 5 y por lo tanto es sustancialmente inferior a la de la plataforma de chip biológico de la presente invención.

La proporción sustancialmente incrementada entre el área superficial del fondo de la cámara de reacción y la altura de las paredes laterales proporcionada por la presente invención presenta la ventaja de que, aunque el volumen de la cámara de reacción sea reducido, se proporciona una gran superficie que presenta numerosos sitios de unión con el fin de inmovilizar moléculas biológicamente activas y por lo tanto para llevar a cabo reacciones. Además, la cámara de reacción de la invención permite una evaluación sustancialmente mejorada de los ensayos realizados en la cámara de reacción utilizando sistemas convencionales de detección, debido a que las fuentes de los errores causados por las dimensiones de los pocillos convencionales, que tienden a distorsionar los valores de medición, resultan eliminadas. Debido a su pequeña profundidad, las cámaras de reacción de la invención permiten posicionar un escáner convencional o algún otro dispositivo convencional de detección, verticalmente sobre la abertura de la cámara de reacción o verticalmente dentro de la misma, en un ángulo de 90°, y después realizar la medición correspondiente. En contraste con las placas de microtitulación convencionales, esto significa que no se producen efectos de apantallamiento, que podrían resultar en errores en los valores de medición obtenidos. Debido a su pequeña profundidad, las cámaras de reacción de la plataforma del chip biológico de la invención también permiten, por ejemplo, aplicar fácilmente un ácido nucleico en los fondos de las cámaras de reacción individuales utilizando un dosificador puntual convencional, sin necesidad de insertar el dosificador puntual muy profundamente en el interior de las cámaras de reacción.

En contraste con los chips biológicos convencionales, en los que las moléculas biológicas se aplican en una plataforma de nivel plano, en particular una plataforma de vidrio, en forma de puntos, y en los que no se encuentran presentes cámaras de reacción definidas ni cámaras de reacción separadas, la plataforma del chip biológico de la invención se compartimentaliza en forma de por lo menos una única cámara de reacción definida o en otras realizaciones, una pluralidad o un gran número de cámaras de reacción separadas. Por lo tanto, la plataforma del chip biológico también puede utilizarse para reacciones con reactivos que se encuentran exclusivamente en solución, y en las que, según resulte necesario, pueden llevarse a cabo diferentes reacciones con diferentes reactivos. Además, los portadores de chip biológico de la invención también pueden utilizarse para llevar a cabo reacciones en las que se une por lo menos un reactivo a la superficie del fondo de la cámara de reacción. En contraste con los chips biológicos convencionales, debido a la compartimentalización de la plataforma del chip biológico de la invención, pueden llevarse a cabo diferentes reacciones con los mismos o diferentes reactivos unidos, según resulte necesario, en las cámaras de reacción individuales de la plataforma del chip biológico de la invención. Debido a que las cámaras de reacción de la plataforma del chip biológico de la invención se realizan en forma de cavidades separadas, resulta posible, por ejemplo, llevar a cabo en las cámaras de reacción individuales de una plataforma de chip biológico de la invención, simultáneamente diferentes hibridaciones de ácidos nucleicos con diferentes ácidos nucleicos y/o diferentes reacciones de unión proteína-proteína con diferentes proteínas, sin que dichas reacciones individuales interfieran entre sí. En contraste con la plataforma de chip biológico de la invención, un chip biológico no compartimentalizado convencional no proporciona dicha oportunidad. De esta manera, la plataforma de chip biológico de la presente invención combina ventajosamente las ventajas de la tecnología de chip con las ventajas de la tecnología de placas de microtitulación.

La plataforma de chip biológico de la invención resulta especialmente adecuada para llevar a cabo análisis de ácidos nucleicos o de proteínas específicos de un paciente. Se encuentra contemplado en la invención, por ejemplo, que la superficie del fondo de las cámaras de reacción del portador de chip biológico de la presente invención se encuentre funcionalizada con grupos químicos que permitan la unión de moléculas biológicas, en particular de sondas de ácidos nucleicos que presentan una secuencia de ácido nucleico conocida, o con proteínas que presenten una secuencia de aminoácidos conocida. Mediante la inmovilización de moléculas biológicamente activas y la utilización de la plataforma de chip biológico de la invención que presenta cámaras de reacción funcionalizadas, resulta posible producir un chip biológico que, por ejemplo, permite que ocurra una multitud de hibridaciones de ácidos nucleicos diagnósticas o de reacciones de unión de proteínas y ácidos nucleicos o de reacciones de unión proteína-proteína.

Además, la invención proporciona que en una realización de la invención, la plataforma de chip biológico de la invención presenta dimensiones que permiten insertar la plataforma de chip biológico de la invención en una placa de microtitulación convencional que presenta dimensiones SBS (Society of Biomolecular Screening) estándares. En una realización, la plataforma de chip biológico de la invención se construye en forma de una tira cuya longitud permite la inserción dentro de una placa de microtitulación que cumpla los estándares de la SBS, mientras que la anchura de la tira puede modificarse. La configuración de la tira del chip biológico de la invención resulta extremadamente ventajosa, en particular en el diagnóstico clínico, por ejemplo para obtener los parámetros químicos clínicos de un paciente individual. Las cámaras de reacción pueden organizarse linealmente en filas en una tira, y puede organizarse una pluralidad de filas contiguamente entre sí en cada tira.

En un aspecto de la presente invención, un portaobjetos para micromatriz comprende una plataforma plana que presenta una pluralidad de compartimientos en la misma. La plataforma y los compartimientos están formados de un material polimérico, tal como poliestireno o cicloolefina, u otro material plástico. El portaobjetos con compartimientos en el mismo típicamente se moldea mediante inyección.

Según la presente invención, la superficie superior del portaobjetos se recubre con una capa de material reflectante tal como aluminio, oro, cromo u otro material reflectante adecuado. La capa de material reflectante se recubre con una capa de recubrimiento protector para evitar la corrosión u otros daños a la capa reflectante.

En otro aspecto de la invención, la capa reflectante y/o el recubrimiento protector puede aplicarse en cualquier microplaca multipocillo polimérica.

Breve descripción de los dibujos

La fig. 1 es una vista en perspectiva lateral de un portaobjetos de vidrio típico.

La fig. 2 es una vista en perspectiva lateral de un portaobjetos según la presente invención.

La fig. 3 es una vista en perspectiva lateral de un portaobjetos que presenta un recubrimiento reflectante y un recubrimiento protector según la presente invención.

La fig. 4 es una vista esquemática parcial en sección transversal del portaobjetos en la fig. 3, a lo largo de la línea 4-4.

La fig. 5 es un gráfico de columnas que compara las proporciones de señal-ruido de un portaobjetos transparente (etiquetado "Normal") y un portaobjetos espejado (etiquetado "Alu") (es decir, recubrimiento con aluminio) según la presente invención.

La fig. 6 es un gráfico de columnas que compara las intensidades de señal de un portaobjetos transparente con las de un portaobjetos con espejo según la presente invención.

La fig. 7 es una tabla-resumen que muestra la proporción de señal-ruido y la intensidad de señal de dos conjuntos diferentes de longitudes de onda de emisión y de excitación para un portaobjetos transparente en comparación con un portaobjetos espejado según la presente invención.

La fig. 8 es un gráfico X-Y que muestra la fluorescencia de fondo de portaobjetos transparentes de diferentes condiciones de producción en comparación con portaobjetos espejados (es decir, recubiertos de aluminio) según la presente invención.

Descripción detallada de la invención

En la figura 2 se muestra un portaobjetos con micromatriz 55 según la presente invención. La configuración básica del portaobjetos 55 es similar al portaobjetos para matriz de alto rendimiento descrita en la solicitud de patente

internacional nº PCT/EP/2004/000311.

El portaobjetos 55 comprende una plataforma polimérica 10 que presenta una superficie superior 15 y compartimientos 20 sobre la superficie superior 15. Al contrario que el portaobjetos de vidrio de la figura 1, la plataforma 10 en la figura 2 presenta la pluralidad de compartimientos 20 sobre la misma, para recibir una pluralidad de ensayos correspondientes. Los compartimientos 20 se encuentran dispuestos en cualquier relación conveniente entre sí. La figura 2 muestra doce compartimientos 20 de forma cuadrada y uniformemente espaciados en dos columnas contiguas. Pueden utilizarse otras disposiciones, con otro número de compartimientos, tal como 96, 384 ó más compartimientos. La plataforma 10 también presenta un área de manipulación 5 para la manipulación manual o automatizada sin contacto, o sin contaminación, del área de los compartimientos 20. La plataforma 10 típicamente se moldea mediante inyección y está realizada en un material polimérico tal como poliestireno, cicloolefina u otro material plástico.

La plataforma 10 puede presentar las dimensiones estándares de un portaobjetos de vidrio para micromatrices, tal como una longitud de 75 mm y una anchura de 25 mm. También se encuentran contempladas otras dimensiones estándares de portaobjetos. Los compartimientos 20 son cuadrados y cada lado puede ser de 6 mm para el portaobjetos de tamaño estándar, con una distancia de compartimiento a compartimiento de 9 mm. Nuevamente, pueden utilizarse otro número, dimensiones, formas y espaciado de los compartimientos 20, los cuales se encontrarán comprendidos dentro del alcance de la presente invención.

Las paredes de los compartimientos 30 definen el perímetro de cada compartimiento 20. Las paredes 30 preferentemente presentan una altura de entre 0,10 mm y 1,0 mm, o más preferentemente de entre 0,25 mm y 0,75 mm, y más preferentemente de aproximadamente 0,50 mm. Las paredes 30 proporcionan la barrera física para retener los reactivos dentro del compartimiento 20 y evitar la contaminación cruzada con los reactivos presentes en otros compartimientos 20.

El portaobjetos 55 permite realizar ensayos múltiples en un único portaobjetos y además proporciona un portaobjetos mejorado respecto a los portaobjetos de vidrio indicados anteriormente. Sin embargo, los polímeros y aditivos utilizados en los polímeros típicos utilizados para fabricar el portaobjetos 55 pueden producir una fluorescencia de fondo más alta de lo deseado (por ejemplo ver la figura 8).

Por lo tanto, el portaobjetos 55 también presenta un recubrimiento reflectante 35 aplicado en la superficie superior 15 (también denominado portaobjetos espejado en la presente memoria) y los compartimientos 20, tal como se muestra en el portaobjetos 55 de la figura 3.

Respecto a la figura 4, se muestra una vista esquemática parcial en sección transversal del portaobjetos 55 de la fig. 3, a lo largo de la línea 4-4. Este dibujo no se proporciona a escala, sino para ilustrar los recubrimientos delgados que pueden aplicarse sobre el portaobjetos 55. El recubrimiento reflectante 35 resulta en un fondo fluorescente reducido del portaobjetos 55. El recubrimiento reflectante 35 puede ser una capa de aluminio, oro, cromo u otro material reflectante adecuado.

El recubrimiento reflectante 35 puede aplicarse mediante deposición en alto vacío. La deposición se lleva a cabo en alto vacío (mejor que a 10^{-4} mbar). con aluminio de alta pureza de bajo punto de fusión en procedimientos estándares bien conocidos. Este procedimiento resulta necesario para mantener un estrés térmico reducido de los productos poliméricos durante la aplicación del aluminio. Con otras técnicas (que funcionan a temperaturas elevadas), los productos poliméricos de bajo punto de fusión podrían resultar dañados o destruidos.

La capa de material reflectante se recubre con una capa de recubrimiento protector 40, para evitar la corrosión u otros daños a la capa reflectante. La capa protectora 40 debe ser muy estable para evitar que la superficie metálica entre en contacto con reactivos oxidantes. Por lo tanto, el recubrimiento protector 40 es una deposición de polidimetilsiloxano aplicado mediante polimerización en plasma.

Además, la superficie del recubrimiento protector 40 se procesa, se trata o se recubre adicionalmente para la funcionalización de la superficie. La funcionalización de la superficie prepara la superficie de manera que pueda inmovilizar una matriz de biomoléculas en la superficie. La utilización del compuesto de organosilicio polidimetilsiloxano ofrece la oportunidad de seguir otras rutas más sintéticas (por ejemplo fotoquímica, química de radicales, técnicas de plasma) para la funcionalización superficial que la química SOL GEL habitual que se utiliza para los portaobjetos de vidrio para chips biológicos. La funcionalización superficial del recubrimiento protector 40 puede llevarse a cabo con el GBO 3-D Amino surface. Puede procesarse un kit PARO Check™ y compararse con un PARO Check™ procesado simultáneamente (bajo condiciones idénticas) de un portaobjetos transparente convencional que incluya la hibridación.

Experimento 1

En el presente experimento, se compararon las características de rendimiento de un portaobjetos polimérico sin recubrimientos con un portaobjetos 55 que presentaba el recubrimiento reflectante 35 y el recubrimiento protector 40 según la presente invención. Ambos portaobjetos en el presente experimento presentaban plataformas sustancialmente idénticas 10 realizadas en el mismo polímero, es decir, polímero cicloolefina.

El portaobjetos 55 según la presente invención se recubrió con capa reflectante 35 que comprendía una capa de un micrómetro de aluminio aplicada mediante deposición en alto vacío. El recubrimiento protector 40 se aplicó sobre la capa de aluminio 35 y comprendía una capa de 0,2 micrómetros de polidimetilsiloxano $[(CH_3)_2SiO]_n$ aplicada mediante polimerización en plasma.

A continuación, se dosificaron en cada uno de los dos portaobjetos puntos de biomoléculas inmovilizadas etiquetadas con Cy3 y Cy5, incluyendo diversos oligonucleótidos, polinucleótidos y ADNc. Se encontró que el portaobjetos 55 que presentaba la capa reflectante 35 y el recubrimiento protector 40 mostraba una fluorescencia de fondo significativamente inferior e intensidades de señal (y proporciones de señal a fondo) más altas.

Con referencia a la fig. 5, el gráfico de columnas compara las proporciones de señal a ruido (SNR) del portaobjetos sin recubrimientos (etiquetado como "Normal") con el portaobjetos 55 según la presente invención (etiquetado "Alu"). Las lecturas se obtuvieron a una longitud de onda de excitación de 635 nm y a una longitud de onda de emisión de 678 nm. Puede observarse que los valores de señal a ruido para el portaobjetos 55 con la capa reflectante de aluminio 35 presentaba una proporción de señal a ruido más alta que el portaobjetos no recubierto para todas las biomoléculas sometidas a ensayo. La proporción de señal a ruido del portaobjetos 55 era más alta que la del portaobjetos no recubierto, en algunos casos en más del 200%, en algunos casos en más del 300%, y en algunos casos en más del 400%.

La fig. 6 muestra un gráfico de columnas que compara las intensidades de señal del portaobjetos no recubierto (etiquetado "Normal") con las del portaobjetos 55 (etiquetado "Alu"). Nuevamente, las lecturas se obtuvieron a una longitud de onda de excitación de 635 nm y a una longitud de onda de emisión de 678 nm. Puede observarse que la intensidad de señal del portaobjetos 55 con la capa reflectante de aluminio 35 era más alta que la intensidad de señal del portaobjetos no recubierto para todas las biomoléculas sometidas a ensayo. La intensidad de señal del portaobjetos 55 era más alta que la del portaobjetos no recubierto, en algunos casos en más del 200%, en algunos casos en más del 300%, y en algunos casos en más del 400%.

La fig. 7 es una tabla-resumen que muestra las proporciones de señal a ruido y los valores de intensidad de señal para el portaobjetos no recubierto (Normal) y el portaobjetos 55 (Alu) bajo dos conjuntos diferentes de longitud de onda de excitación (532 nm y 635 nm) y longitud de onda de emisión (580 nm y 678 nm, respectivamente). En consistencia con los gráficos anteriormente indicados, puede observarse que las proporciones de señal a ruido y las intensidades de señal del portaobjetos 55 (Alu) eran más altas que las del portaobjetos no recubierto bajo ambos conjuntos de longitudes de onda de excitación y emisión para todas las biomoléculas de ensayo.

La fig. 8 es un gráfico que muestra la fluorescencia de fondo de diversos portaobjetos no recubiertos obtenidos bajo diferentes condiciones de producción (tales como las temperaturas y presiones del molde) en comparación con portaobjetos 55 que presentan una capa reflectante 35 (es decir, recubiertos con aluminio). El gráfico muestra que el fondo fluorescente de los portaobjetos 55 que presentan la capa de aluminio es mucho más reducido que el fondo fluorescente de los portaobjetos no recubiertos.

El recubrimiento reflectante 35 puede aplicarse en cualquier tipo de microplaca, incluyendo las microplacas descritas en la patente US nº 6.514.464, publicada el 4 de febrero de 2003, de Knebel, y titulada "Microplate With Transparent Base". También pueden utilizarse los procedimientos de fabricación utilizados para construir las placas descritas en la patente US nº 6.514.464, con las etapas adicionales de deposición al vacío de la capa reflectante 35 y/o de polimerización en plasma de la capa protectora 40.

REIVINDICACIONES

1. Portaobjetos para micromatrices, que comprende:

5 una plataforma polimérica que presenta una superficie superior, una pluralidad de compartimientos sobre la superficie superior, presentando dichos compartimientos un fondo y una pared lateral que se extiende desde dicho fondo, presentando dicho fondo un área superficial medida en milímetros y presentando dicha pared lateral una altura sobre dicho fondo medida en milímetros, en la que la superficie del fondo del compartimiento se ha funcionalizado con grupos químicos que permiten la unión de moléculas biológicas, y en la que la proporción entre el valor numérico de dicha área superficial de dicho fondo y el valor numérico de dicha altura de dicha pared lateral es de por lo menos 30, caracterizada porque dicha superficie superior se encuentra recubierta por una capa de aluminio, oro o cromo a modo de material reflectante, y porque dicha capa de material reflectante se encuentra recubierta por una capa de polidimetilsiloxano a modo de recubrimiento protector.
- 15 2. Portaobjetos para micromatrices según la reivindicación 1, caracterizado porque la pluralidad de compartimientos ocupa una primera parte de la superficie superior, y un área de manipulación ocupa una segunda parte de la superficie superior.
3. Portaobjetos para micromatrices según la reivindicación 2, caracterizado porque cada uno de entre la pluralidad de compartimientos ocupa sustancialmente la misma cantidad de espacio sobre la superficie superior.
- 20 4. Portaobjetos para micromatrices según la reivindicación 2, caracterizado porque el recubrimiento reflectante es aluminio.
5. Portaobjetos para micromatrices según la reivindicación 2, caracterizado porque existen exactamente doce compartimientos.
6. Portaobjetos para micromatrices según la reivindicación 4, caracterizado porque cada uno de entre la pluralidad de compartimientos se encuentra definido por un borde de forma sustancialmente cuadrada.
- 25 7. Portaobjetos para micromatrices según la reivindicación 1, caracterizado porque dicha proporción entre el valor numérico de dicho área superficial de dicho fondo y el valor numérico de dicha altura de dicha pared lateral es superior a 50.
8. Portaobjetos para micromatrices según la reivindicación 1, caracterizado porque dicha proporción entre el valor numérico de dicho área superficial de dicho fondo y el valor numérico de dicha altura de dicha pared lateral es superior a 70.
- 30 9. Portaobjetos para micromatrices según la reivindicación 1, caracterizado porque dicha proporción entre el valor numérico de dicho área superficial de dicho fondo y el valor numérico de dicha altura de dicha pared lateral es superior a 90.
10. Portaobjetos para micromatrices según la reivindicación 1, caracterizado porque comprende además un área de unión sobre dicho fondo para la unión de por lo menos una entidad química.
- 35 11. Portaobjetos para micromatrices según la reivindicación 10, caracterizado porque dicho area de unión se forma mediante funcionalización de por lo menos una parte de dicho fondo.
12. Portaobjetos para micromatrices según la reivindicación 1, caracterizado porque el número de dichos compartimientos es un número entero múltiplo de 8.
- 40 13. Portaobjetos para micromatrices según la reivindicación 1, caracterizado porque el número de dichos compartimientos es un número entero múltiplo de 12.
14. Portaobjetos para micromatrices según la reivindicación 1, caracterizado porque comprende además una cámara de volumen agrandable extraíble que presenta una pared lateral de la cámara de una altura superior a la de dicha pared lateral del compartimiento.



Fig. 1

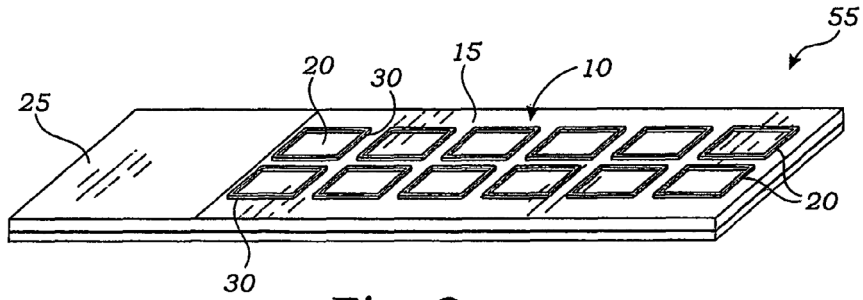


Fig. 2

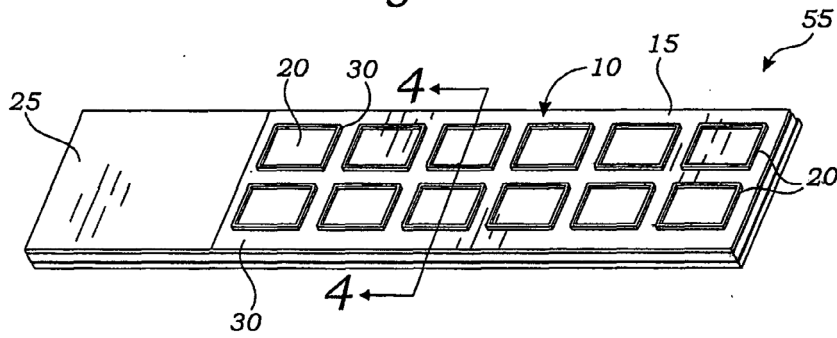


Fig. 3

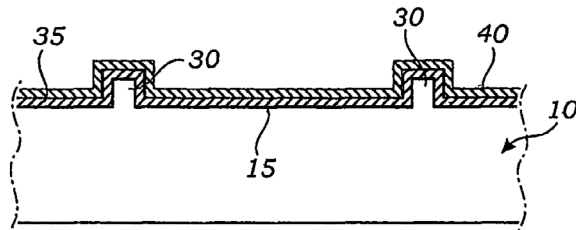


Fig. 4

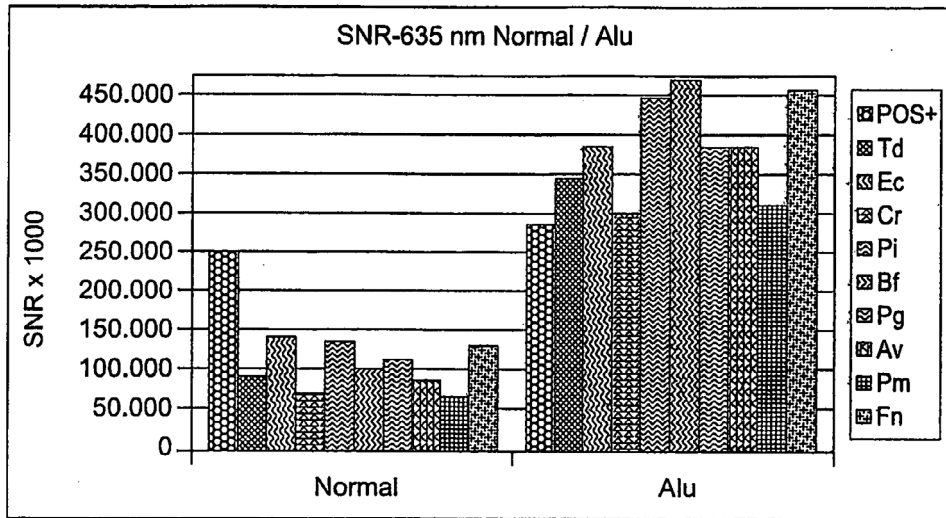


Fig. 5

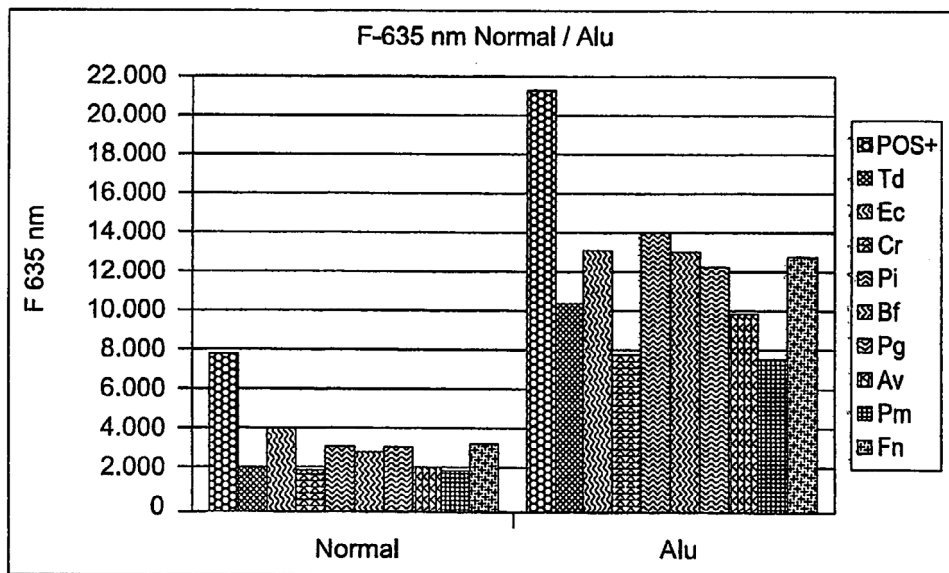


Fig. 6

Normal				
SNR 532	F532 Media	SNR 635	F532 Media	Bac
280.912	18.079	248.888	7.652	POS+
151.408	8.119	88.035	2.094	Td
150.681	10.365	139.110	3.649	Ec
179.488	12.267	74.207	1.868	Cr
100.588	5.999	129.440	3.046	Pi
122.016	8.890	103.975	2.665	Bf
145.523	10.007	115.775	2.853	Pg
117.246	8.397	84.429	2.027	Av
146.505	9.101	72.606	1.828	Pm
144.666	8.623	129.305	3.200	Fn
Alu				
370.864	62.823	280.137	21.117	AluPOS+
332.744	61.121	342.032	10.344	AluTd
319.721	59.626	383.388	12.962	AluEc
343.517	60.076	303.115	7.631	AluCr
237.726	46.770	447.045	13.953	AluPi
301.145	63.922	476.262	12.942	AluBf
304.328	60.237	386.120	12.213	AluPg
291.867	50.068	387.555	9.845	AluAv
399.234	58.432	313.400	7.299	AluPm
292.179	60.204	458.208	12.735	AluFn

Fig. 7

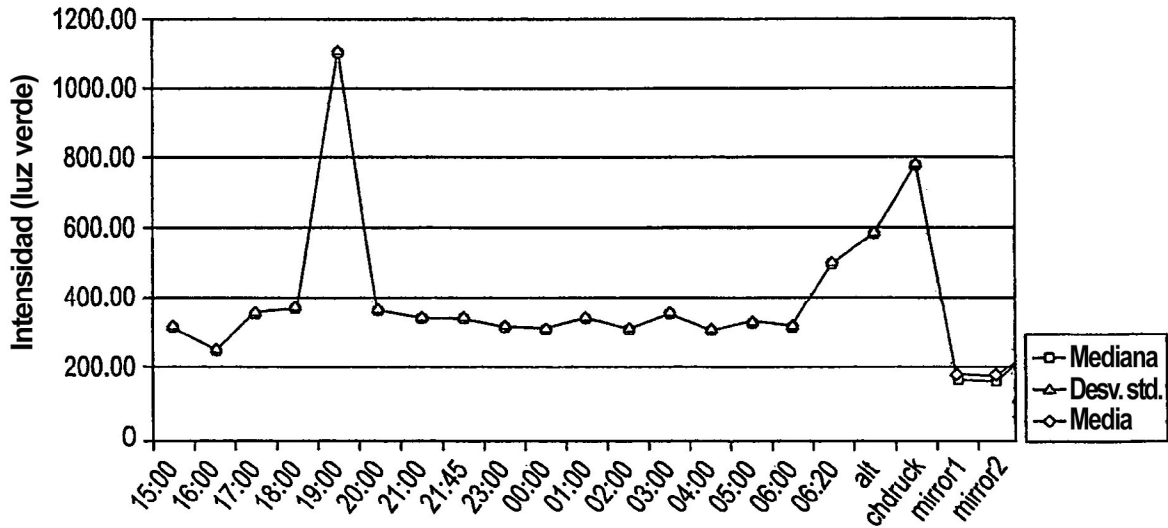


Fig. 8