



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 365 079**

51 Int. Cl.:
G01N 33/543 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07826303 .5**

96 Fecha de presentación : **07.09.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2059810**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **20.05.2009**

54 Título: **Sistema de detección y cuantificación de material biológico constituido por uno o más sensores ópticos y una o más fuentes de luz, proceso asociado y aplicaciones relacionadas.**

30 Prioridad: **08.09.2006 PT 10356106**

73 Titular/es: **Universidade Nova de Lisboa
Campus de Campolide
1099-085 Lisboa, PT**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
21.09.2011

72 Inventor/es: **Ferrão de Paiva Martins, Rodrigo;
Ribeiro Viana Baptista, Pedro Miguel y
Correia Fortunato, Elvira Maria**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
21.09.2011

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 365 079 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

Sistema de detección y cuantificación de material biológico constituido por uno o más sensores ópticos y una o más fuentes de luz, proceso asociado y aplicaciones relacionadas.

5

Campo de la Invención

La presente invención se relaciona con un nuevo sistema y proceso capaz de analizar muestras moleculares orgánicas o soluciones compuestas biológicas acuosas con base en métodos colorimétricos (detección, cuantificación e identificación) utilizando una estructura de silicio amorfo p'ii'n altamente sensible a la luz visible con una combinación de silicio amorfo y semiconductores activos con base en cerámicas como detectores y nanopartículas metálicas como nanosondas que contienen las especies que se van a analizar, además del uso de una luz monocromática roja o azul suministrada por un diodo o laser que emite luz. El sistema antes descrito es capaz de detectar y cuantificar las diferencias colorimétricas producidas por soluciones que contienen nanosondas, preferiblemente oro.

10

15

Estas sondas pueden funcionalizarse con oligonucleótidos específicos, complementarios con secuencias de ADN/ARN, proteínas, y por ejemplo anticuerpos y/o antígenos relacionados con ciertas enfermedades, u otras muestras o soluciones de composiciones biológicas, y puede aplicarse en diversas áreas de la biotecnología, incluyendo la biomedicina.

20

Resumen de la Invención

La presente invención se relaciona con un sistema y proceso para la detección y/o identificación cualitativa y cuantitativa de una muestra o solución acuosa de composiciones biológicas, como por ejemplo secuencias específicas de ácidos nucleicos presentes en muestras biológicas, que cuando se funcionalizan con nanosondas metálicas, cambian sus rangos de absorción/emisión de acuerdo con las reacciones químicas.

25

El proceso de detección y cuantificación se basa en la respuesta de un fotosensor, estructuras p'ii'n singular o integrada, con base en la tecnología de película delgada de silicio amorfo, nanocristalino o microcristalino y sus aleaciones, así como en los nuevos semiconductores activos cerámicos, tales como óxidos, amorfos o no amorfos capaces de detectar ópticamente la luz absorbida/emitada.

30

La estructura del fotosensor detecta y cuantifica la variación de color, asociada a una referencia (señal de la fuente de luz). Esta variación de color es causada por nanosondas de metal, siendo este preferiblemente oro, cuando se funcionalizan con la muestra o la solución acuosa de composiciones biológicas, como por ejemplo oligonucleótidos complementarios a secuencias específicas de ADN/ARN que van a se investigadas.

35

La respuesta de detección corresponde a la diferencia entre los valores de referencia (haz de luz directamente sobre el sensor) y los valores después de la introducción del liquido biológico.

40

Esta señal analógica se condiciona apropiadamente mediante la electrónica apropiada y se presenta en forma analógica o digital.

La señal resultante, a través de la selección apropiada del algoritmo de calibración de corrección, es proporcional a la concentración de la muestra biológica funcionalizada en las sondas.

45

El sistema referido y el proceso de detección y/o identificación y proceso de cuantificación resultante del análisis molecular de la muestra o solución acuosa de la composición biológica tiene aplicación en biotecnología, incluyendo biomedicina, como por ejemplo, en la cuantificación y detección de secuencias de ácidos nucleicos presentes en una muestra biológica.

50

Antecedentes de la Invención

- 5 Actualmente, en muchos diagnósticos clínicos y de laboratorio de muestras biológicas, se requieren sistemas simples de bajo coste, con la posibilidad de cuantificar cantidades muy pequeñas de una forma rápida y confiable.
- Entre estos, se pone gran interés en la identificación de ácidos nucleicos, ADN/ARN, y/o proteínas, por ejemplo anticuerpos y/o antígenos relacionados con cierta enfermedad.
- 10 Los ácidos nucleicos son el material genético de cualquier organismo viviente, que contienen información específica que permite su caracterización completa. Por lo tanto, es posible identificar secuencias características para cada ser viviente, a partir de las cuales puede obtenerse información relevante: identificación de secuencias; identificación de mutaciones que pueden causar enfermedades; detección de agentes patogénicos tales como bacterias y virus, etc [1].
- 15 La mayor parte de las técnicas de caracterización conocidas para secuencias de ADN/ARN se basan en la hibridación selectiva y específica de pequeños oligonucleótidos (sondas) con la secuencia complementaria de ADN (objetivo). Actualmente, los métodos de fluorescencia o radioactividad son los más utilizados para la detección de secuencias específicas por hibridación. Sin embargo, se verifica que estas técnicas son costosas y extremadamente lentas [2, 3]. Además, las técnicas de hibridación necesitan una cantidad significativa de objetivo para obtener una señal. Siguiendo este procedimiento estas técnicas son susceptibles principalmente de aplicarse después de un proceso de amplificación del ácido nucleico a partir de la muestra en cuestión, a través de la técnica de reacción en cadena de polimerasa-PCR. El PCR permite la amplificación de número de moléculas de ADN disponible, imitando lo que sucede en el proceso de multiplicación de las células en un organismo.
- 20
- 25 Las nuevas técnicas de amplificación en tiempo real (por ejemplo PCR en tiempo real) ofrecen un alto nivel de automatización y disminuyen el tiempo necesario para la amplificación y detección. Con el uso de estas técnicas, también es posible obtener resultados cuantitativos.
- No obstante, a pesar de los altos costes asociados con los equipos y para las pruebas, estas tecnologías presentan una gran desventaja, la cual evita un uso más amplio en los laboratorios, el manejo de muestras, puesto que se requieren muestras altamente purificadas lo cual requiere personal y laboratorios equipados altamente especializados [4] [5].
- 30
- Más recientemente, los chips de ADN (microgrupos de sensores integrados) han ganado alguna popularidad. Su principal aplicación ha estado en los estudios de expresión genética, donde los chips ofrecen análisis simultáneos de diversos genes para una muestra simple. Básicamente, esta técnica se basa en la hibridación simultánea y un alto número de muestras con cantidades mínimas de muestra.
- 35
- Ha pesar de todo esto, la etapa de amplificación es aun requerida. Adicionalmente, el contenido del chip es todavía un problema que debe resolverse, además de que es una tecnología costosa, puesto que estos chips no son reutilizables [6].
- 40
- Se han desarrollado varios métodos colorimétricos para la detección de ácidos nucleicos [7-10]. Algunos de estos métodos se basan en las propiedades ópticas (resonancia de plasmón en superficie) de oro u otras nanopartículas metálicas [11-12], en función de su forma y tamaño.
- 45
- Estas nanopartículas de oro u otro metal, tal como plata o aleaciones plata-oro son extremadamente sensibles a los cambios en el medio, presentando una variación de color, de rojo a azul en el caso del oro. La variación de color puede ser el resultado de la agregación de varias partículas, por ejemplo, mediante la acción de una cadena de ADN no complementaria.
- 50
- El cambio de color es una respuesta macroscópica originada a partir de un fenómeno de escala nanométrica, cuando el ADN/ARN puede comportarse en una forma complementaria o no complementaria. Para cada una de estas reacciones existe una respuesta de sistema de sensor diferente para la absorción de la luz incidente.

Haciéndolo así, la hibridización de sondas de ADN o ARN enlazadas a partículas de oro para la identificación de secuencias específicas es una técnica de bajo coste y fácil de utilizar, que podría ser una alternativa para los métodos convencionales. No obstante, aunque la técnica basada en nanopartículas de oro es bastante sensible y de bajo coste, aun requiere la necesidad de registrar la variación de color. Aun más, si el objetivo presenta solamente un cambio de color pequeño en relación con la sonda, la desviación del pico máximo (color) puede detectarse solamente a través de equipos con alta sensibilidad, involucrando también algunas limitaciones (tales como la gran cantidad de líquido biológico requerido y la necesidad de una resolución de alto espectro).

Por otro lado, además de la detección de la desviación en relación al pico, estas técnicas son incapaces de suministrar información cuantificada, en términos de la variación de intensidad asociada con un color o una desviación de color dados.

Actualmente, hay varios documentos que describen técnicas relacionadas en esta área:

Así, el documento correspondiente a la patente US2006127931 se refiere a un proceso de detección de la luz transmitida asociado con varias nanocavidades. En este caso el confinamiento de la luz, asociado a las áreas donde se localizan las partículas, es detectado midiendo la reducción de la luz transmitida a través de una estructura fotónica. Este proceso se optimiza para el rango de longitudes de onda entre 1400 y 1600 nanómetros. El proceso de las nanocavidades y la guía de onda no se considera en la presente invención.

El documento de patente DE102004015272 está relacionado con biosensores que utilizan CMOS (semiconductor metal-óxido complementario) como tecnología que pretende determinar la presencia de ADN que hibridiza con moléculas objetivo colocadas en el fotodiodo. De esta manera no es posible reutilizar el sensor, ni es posible cuantificar la señal, ni es posible determinar la desviación de color. Aun ms, no utilizan nanosondas de partículas metálicas en el proceso de detección. Las sondas/muestras analizadas están enlazadas a un electrodo el cual genera una señal eléctrica. La estructura es diferente de la propuesta en esta invención, puesto que se basa completamente en la tecnología CMOS. El documento de patente US2005046847 trata de un método para la iluminación y detección de ADN óptica considerada de bajo costo y respuesta rápida. El sistema se basa en el barrido de grupos integrados de sensores con base en sistemas microelectromecánicos. En esta invención, las fuentes de luz que se van usar son múltiples y se conmutan entre ellas mismas, de tal manera que el mismo biosensor puede ser iluminado por más de una fuente de luz, o una fuente de luz puede iluminar varios biosensores. Además, utiliza filtros para la discriminación de las diferentes longitudes de onda y/o discriminación de la polarización del haz de luz. Finalmente, puede aun incluir microlentes para enfocar la luz incidente. Sin embargo esta tecnología no se aplica a los componentes en nanopartículas y difiere de la presente invención en los siguientes aspectos: las propiedades ópticas de la muestra en estudio tienen que ser analizadas después de la iluminación óptica, por lo tanto es necesario un postprocesamiento/análisis de la muestra. No está presente en el método la aplicación de nanopartículas metálicas/oro. La estructura es formada por dos matrices, una que contiene las fuentes de luz y la otra que contiene los detectores, por lo tanto es diferente a la presente invención.

El documento W00075276 se refiere a un dispositivo para la detección de ADN basado en un sensor de arseniuro de galio. En este caso, la sonda de ADN se absorbe directamente sobre la superficie de una capa superior del sensor, la cual es una capa conductora de semiconductor degenerada, o una capa aislante o semiaislante.

La detección se hace por hibridización del ADN con el sensor y se controla por la variación de la corriente después de la aplicación de un campo eléctrico, o viceversa. El material y la estructura utilizados también son diferentes. Por lo tanto, este sistema es completamente diferente del propuesto por que está basado en el cambio de conductividad del medio.

El documento DE10142691 reivindica un dispositivo para la detección de la reacción bioquímica y la medición por transmisión de luz a través de poros del sustrato de reacción. Esta invención utiliza silicio poroso y detección por iluminación, y por tal razón difiere sustancialmente de la invención reivindicada en el presente documento.

El documento W02004044549 presenta métodos y composiciones para detección, en el cual un detector universal, que contiene sondas, se incuban con moléculas marcadas. Este método hace uso de marcadores pero no especifica el método de detección usado (colorimétrico, impedancia, etc.).

- 5 El documento EP0667398 describe métodos y dispositivos para la detección de secuencias específicas de ADN sin tener que utilizar marcadores químicos, utilizando solamente técnicas de hibridización. La presente invención difiere del documento publicado puesto que no existe un método automático para la detección de la hibridización, por lo tanto no existe fuente de iluminación, ni un dispositivo para capturar las reacciones que suceden. La hibridización tiene que ser registrada visualmente.
- 10 El documento DE10161529 describe un biosensor para el registro e identificación de moléculas de ADN, llevando a cabo la inmovilización de la muestra en una cavidad recubierta con oro que trabaja como sonda, la cual contiene un fotodiodo. Iluminando la muestra, las señales ópticas son detectadas por un fotodiodo. Este invención difiere sustancialmente de la presente invención propuesta especialmente con respecto a las sondas conectadas al detector y también al diseño de la estructura. También la fuente de luz no puede iluminar directamente la unidad de detección, lo que es diferente de la presente invención.
- 15 El documento EP0248690 trata de métodos y dispositivos para la identificación de ácidos nucleicos virales en ambientes biológicos. Aunque se refiere a la posibilidad de utilizar un método colorimétrico, es muy diferente de la presente invención por su estructura y método de detección.
- 20 El documento CN1661094 se relaciona con un método para la detección de mutación de genes por combinación de: amplificación de los alelos específicos, nanosondas de oro y método colorimétricos. Sin embargo, el proceso descrito difiere sustancialmente del presentado aquí puesto que no especifica el método de detección de la hibridización. La hibridización será registrada visualmente. No existe fuente de iluminación, ni un dispositivo para capturar las reacciones que suceden.
- 25 El documento US2006014237 presenta un sistema de detección para agentes biológicos por combinación de: diodos de emisión de luz para exponer intermitentemente las muestras a radiación electromagnética, circuitos para proporcionar la exposición y los fotodetectores para detectar las emisiones fluorescentes resultantes de la exposición a la radiación. El sistema descrito difiere del presentado aquí puesto que no se utiliza para la detección de ácido nucleicos, ni se usan procesos de hibridización o sondas metálicas y los fotodetectores se utilizan para la detección de fluorescencia.
- 30 El documento WO 03/046527 describe un sistema donde las sondas inmovilizadas sobre una fibra óptica se exponen a una muestra la cual por reconocimiento del analito cambia el acoplamiento óptico entre una fuente de luz y el detector. Los detectores utilizados son uniones p/n estándar que tienen una respuesta máxima alrededor de 800 nm.
- 35 El documento US 2005/0157301 describe un sistema de detección de fluorescencia donde las muestras son sometidas a una radiación, generando fluorescencia la cual se detecta por ejemplo por parte de un fotodiodo. Este detector no discrimina la longitud de onda.
- 40 El documento US2006028955 presenta un analizador óptico para muestras biológicas, químicas y bioquímicas para medir el nivel de grasa y azúcar en sangre. Este sistema utiliza diodos de laser y fotosensores que permiten que el analizador lleve a cabo análisis por medición de absorbancia. Este sistema difiere del presentado aquí puesto que no es utilizado para la detección de ácidos nucleicos, y por lo tanto no utiliza técnicas de hibridización ni nanosondas metálicas.
- 45 El análisis de las muestras biológicas, por ejemplo en el caso de específico de ADN/ARN y proteínas, se utiliza en análisis forense, diagnóstico clínico y mercados de laboratorio e investigación. Actualmente, estas técnicas se utilizan para la el diagnóstico de enfermedades infecciosas, aunque el diagnóstico de cáncer y la genética (investigación) representan áreas relevantes de aplicación. Las principales industrias que usan actualmente métodos de detección de muestras biológicas, como por ejemplo en el caso específico de ADN/ARN y proteínas son:
- 50
- Organizaciones de defensa → asuntos asociados con la bioseguridad han provocado el incremento de la investigación por soluciones rápidas y confiables de pruebas de ADN/ARN, especialmente en los Estados Unidos.

- Instituciones medicas → se utilizan para diagnostico medico, ha saber para la selección de enfermedades genéticas o identificación de agentes patogénicos.
- Organizaciones de investigación y desarrollo → muchas pruebas moleculares de hacen utilizando detección de ADN para propósitos de investigación.
- Centros de salud y laboratorio para selección y análisis de enfermedades infecciosas.
- Organización Mundial de la Salud.
- Organizaciones gubernamentales y no gubernamentales para la detección, combate y erradicación de enfermedades patogénicas.

5

10 Además de estas industrias, que ya usan métodos de detección de muestras biológicas, como por ejemplo, en el caso específico de ADN/ARN y proteínas, también hay nuevos segmentos que son capaces de hacer uso de estas pruebas, tales como:

- Industria de alimentación → control de calidad a productos, a través de la toma de muestra de productos y análisis de laboratorio.
- Industria farmacéutica, pruebas de cuantificación de la acción de liberación de fármacos.
- Industria veterinaria/agrícola → para la detección de agente patogénicos, ha saber en el caso de la industria agrícola para la detección de organismos genéticamente modificados.

15

20 Las pruebas de muestras biológicas, como por ejemplo, en el caso específico de ADN/ARN y proteínas ya se usan ampliamente en un amplio campo de aplicaciones, sin embargo, debido a los costos asociados y a las dificultades de manejo de las muestras, el campo de aplicación esta limitado.

20

25 La presente invención tiene el objetivo de desarrollar un sistema simple y barato que permita la “sustitución” de cualquier sistema de detección (por ejemplo, un espectrofotómetro convencional) por un fotodetector de alta sensibilidad, en un amplio rango de longitudes de onda desde el infrarrojo hasta el ultravioleta, capaz de suministrar una información cualitativa y cuantitativa con base de en la hibridización específica y selectiva de sondas funcionalizadas con nanopartículas de oro, o cualquier otro metal, para la detección de muestras biológicas, como por ejemplo, en el caso específico de secuencias específicas de ADN/ARN, de una manera más rápida y, al menos, tan confiable como los métodos existentes.

25

30

Este nuevo método, que combina dos tecnologías, puede llevar a reducción significativas en costes y en tiempo por análisis de muestras biológicas, como por ejemplo, en el caso específico de ADN/ARN, y por lo tanto, permite que este tipo de pruebas moleculares sean logradas en prácticamente cualquier lugar del mundo.

35

Además, también es posible tener una versión autoalimentada del sistema sensor, para aplicaciones de prueba rápida del tipo SI/NO asociando el fotodetector con un componente que opera en modo fotovoltaico, presentando una característica de portabilidad al sistema.

40

Descripción General de la Invención

La presente invención reporta un sistema integrado, con la posibilidad de ser autoalimentado, para la detección y cuantificación de muestras biológicas, por ejemplo, en el caso específico de secuencias específicas de ácidos nucleicos, hasta aproximadamente docenas de fentomoles, haciendo uso de nanosondas metálicas, preferencialmente oro.

45

El sistema de detección se basa en la respuesta de un sistema sensor óptico singular y/o integrado con una fuente de luz monocromática controlable.

50

La fuente de luz está hecha de láseres de estado sólido de baja energía (mayor precisión en la respuesta), diodos emisores de luz orgánicos o inorgánicos, cuyo rango de longitudes de onda cubre el rango del espectro visible (400 a 800 nm), a saber los colores azul, verde y rojo. En este ultimo caso, la luz puede ser incluso colimada y/o pulsada. En cualquier caso, es posible tener una “fuente de potencia de iluminación integrada” altamente exacta en cuanto se refiere a los datos cuantificación, que involucra aplicaciones fijas.

La luz emitida puede enfocarse sobre la muestra, con o sin el uso de microlentes. En un caso concreto específico, donde el haz de luz tiene una forma circular, las dimensiones del haz de luz incidente estarán siempre por debajo de hasta 2 mm de diámetro, o en el caso donde se proyecta la línea de luz, la anchura de la línea esta por debajo de 2 mm y la longitud puede ir hasta 100 mm, en función del tamaño del sistema sensor integrado usado.

5 Los valores de la intensidad de la fuente de luz son controlables entre 0.01 mW/cm^2 hasta 100 mW/cm^2 .

La fuente de luz puede ser o no pulsada con el fin de eliminar el ruido asociado con la luz ambiental. En este caso la frecuencia de la señal pulsada puede variar entre 10 Hz y 2000 Hz.

10 El sistema fotosensor sencillo o integrado esta basado en la tecnología de película delgada de silicio nanoamorfa, nanocrystalina o microcrystalina y sus aleaciones [14-17] así como en nuevos semiconductores cerámicos activos amorfos y no amorfos, tales como óxido de multicomponentes IGZO, IAgZO, SnZIO, GZIO, CuOIZ, GITO, etc, capaces de detectar ópticamente la luz absorbida/emitada.

15 Este sistema de fotosensor detecta y cuantifica cambios de color, asociados con una referencia (señal de la fuente de luz) causados por nanosondas funcionalizadas con muestras orgánicas o solución acuosa de composiciones biológicas.

Los fotosensores que se utilizan están basados en estructuras sencillas o p-i-n integradas y/o MIS [18-22].

20 Para las estructuras de sensores sencillas, son capaces de detectar la luz transmitida (o "emitida") a través de la muestra, generando una señal eléctrica, corriente o voltaje, cuantificable que es función de la intensidad de la fuente luz utilizada, de la concentración de la composición biológica que se va a analizar y de la localización de la longitud de onda del pico, para el rango de respuesta espectral del sistema sensor.

25 Para optimizar la relación señal/ruido, la corriente de saturación de los fotosensores debe ser tan pequeña como se posible. La señal medida por los sistemas de fotosensores individuales permite una detección cuantitativa y cualitativa confiable. La confiabilidad y exactitud del método requiere el uso de un mínimo de 10 sensores integrados en el mismo tablero, de tal forma que se determinen límites de control confiables para el conjunto logrado de mediciones llevadas a cabo (información estadística).

30 El sistema sensor individual tiene las siguientes características funcionales:

- a) responsividad de 10 a 10^8 , para niveles de iluminación entre 0.01 mW/cm^2 hasta 100 mW/cm^2 ;
- b) relación señal a ruido mayor de 3 dB, para niveles de iluminación superior a 0.01 mW/cm^2 ;
- 35 c) tiempos de respuesta mayores de $50 \mu\text{s}$;
- d) corrientes de saturación menores de 10^{-7} A/cm^2 ;
- e) detectividad (unidad $\text{cmHz}^{1/2}/\text{W}$) superior a 10^{11} para el pico de la respuesta espectral;
- f) posibilidad de desplazar el pico de la respuesta espectral en un rango 100 nm, mediante un dispersión apropiada del sistema sensor.

40 En este sistema sensor, el pico de la respuesta espectral se ajusta en un amplio rango (400 a 800 nm) mediante selección apropiada de composición de la capa fotosensitiva o mediante el uso apropiado de estructuras en tándem del fotodiodo y en un rango más estrecho (100 nm), variando la polarización del sensor.

45 El sustrato donde el sensor o grupo de sensor esta depositado es transparente para el rango de longitudes de onda de interés, siendo posible crear microsuros sobre el lado opuesto, donde el deposito del sensor tiene lugar.

50 Los microsuros consisten en obtener cavidades de forma cónica con un diámetro inferior a 3 mm y centrados en el vértice con el centro geométrico del sensor, de tal manera que trabaje como un contenedor de la solución biológica. Por este método, el acoplamiento óptico entre la luz transmitida a través de la muestra al sensor también se optimiza y la cantidad de composición biológica utilizada en el análisis se reduce sustancialmente.

En el caso de utilizar más de un sensor individual de estructura p-i-n y/o MIS, pueden conectarse, en serie o en paralelo, y la señal eléctrica resultante, corriente o voltaje, se puede acoplar con los circuitos de acondicionamiento de

la electrónica, integrados con el sensor (aplicación ASIC-Circuito Integrado Especifico) o conectado externamente al sensor.

5 Además de utilizar estructuras sencillas, podemos utilizar estructuras integradas, ajustadas para diferentes picos de respuesta espectral-hasta un máximo de 4, y con electrodos de salida transparentes, diferenciados por capas activas diferentes que constituyen los sensores apilados. Este tipo de estructuras permiten el control asociado a la información de un color dado y determina su variación incremental. En este caso, es posible organizar esta estructura en disposiciones lineales integradas, para detección múltiple y simultanea la cual, además de incrementar la confiabilidad, incrementa la exactitud de los datos cuantificados. Estos significa, que las mediciones son relativas y no absolutas, siendo por lo tanto independientes de todas y de cualquier variación de la fotocorriente (fotovoltaje) debida al envejecimiento o problemas de degradación del sensor. En el caso del sensor integrado, este esta compuesta bien sea por grupos de diferentes nanosensores dispuestos en una forma lineal o matricial, o colocados en dos tableros diferentes, uno encima de otro y desplazados, o sino, producidos sobre el mismo tablero, en un estructura de tándem. Como un sensor integrado, surge o no la posibilidad de tener la electrónica apropiada para el acondicionamiento de señal en bebida.

20 En cada uno de los tableros de circuitos que contienen los fotosensores, el pico de respuesta espectral se optimiza con el fin de maximizar la señal de respuesta para una muestra funcionalizada dada para la fuente de luz correspondiente seleccionada. Haciéndolo así se reduce el error del proceso de cuantificación.

El rango de respuesta de la banda de longitud de onda para cada sensor integrado en un tablero de circuito dado esta tal que, la intensidad de la señal asociada con el pico de uno de ellos es al menos 10 veces mayor que la señal detectada por otro detector.

25 Los sensores integrados pueden disponerse en forma lineal o matricial, donde cada uno de los sensores ocupa un área mínima que puede ser alrededor de 0.3 mm^2 , separados por el doble de la distancia del tamaño del haz óptico incidente.

30 Los sensores integrados pueden estar dispuestos como tándem o en estructura apilada. En este caso, el sensor que da hacia la muestra que va a ser analizada (sensor frontal) debería tener como capa sensible un material con una brecha óptica y espesor mayor que los otros de los sensores por debajo del mismo.

Los sensores integrados exhiben las mismas características funcionales que los individuales.

35 Por deformación por polarización apropiada es posible desplazar el pico de absorción bien sea para sensores individuales o integrados, con el fin de obtener la máxima fotorrespuesta posible para una muestra de prueba dada (diferencia entre la señal que viene de la fuente de luz y la señal detectada por la muestra funcionalizada).

40 Como fotosensores utilizamos dispositivos basados en semiconductores con p-i-i'n, MIS y otras estructuras similares, con alta responsividad en el rango de longitud de onda entre los 400 nm y los 800 nm, donde las letras p y n se refieren a los contactos de carga inyector/colector; la letra i' es la capa intrínseca basada en una aleación que contiene silicio, y otros materiales tales como carbono. i se refiere a la capa fotosensible con respuesta espectral sintonizable, como una función de su composición. Para la estructura MIS, M se refiere a un contacto tipo metálico, I se refiere a una monocapa compuesta de un elemento dieléctrico, con propiedades de alto aislamiento, y S se refiere a al capa fotosensible con pico de absorción sintonizable, como función de su composición.

45 Los sensores antes descritos utilizan silicio y sus aleaciones como semiconductores activos en formas de estructura amorfas, nanocristalinas o microcristalinas, así como óxidos tales como IZO, ZGO, IGZO, IAgZO, SnZIO, GZIO, CuOIZ, GISnO para trabajar como contactos eléctricos altamente conductivos y transparentes [23-25] y también como un elemento activo de claves de conmutación (transistores de película delgada) entre sensores integrados e individuales o de matriz/arreglo [26-28].

50 El proceso de producción de los materiales descritos más arriba se basa en técnicas químicas, físicas o fisicoquímicas, tales como deposición de vapor químico asistida por una radiofrecuencia o plasma de radiofrecuencia ultraalta (PECVD deposición de vapor química potenciada por plasma); deposición de vapor química asistida por alambre caliente (HW-

CVD); deposición de vapor química asistida por luz ultravioleta o microondas; desintegración dc o rf asistida o no por un campo magnético; sol-gel; recubrimiento por rotación, pirolisis por aspersión; crecimiento atómico epitaxial; evaporación térmica asistida por filamento caliente o haz de electrones; crecimiento electroquímico, chorro de tinta.

5 Las temperaturas de proceso utilizadas para fabricar los diferentes componentes de los sensores individuales o integrados (de ahora en adelante siempre denominados sensores) varía entre 20 °C y 400 °C, en función de su funcionalidad y comportamiento eléctrico esperados. De acuerdo a lo que se ha descrito previamente los sensores pueden producirse en cualquier tipo de sustrato tal como celulósico (papel); polimérico (plástico); vidrio; cerámico y metálico, teniendo dimensiones máximas de 10 x 10 cm.

10 La extracción de señal de estos sensores se hace utilizando películas metálicas altamente conductoras, tales como Cr o Ag, o películas de óxidos transparentes de alta conductividad, de estructura cristalina o amorfa, tales como ZGO o IZO.

15 En sensores con una estructura p-i-i'n, el contacto p debería ser suficientemente conductivo y exhibir una brecha óptica que permita la coincidencia apropiada para la siguiente capa semiconductor en la estructura. Además, debería tener un espesor que permita un control apropiado de la respuesta espectral hacia el rango de longitud de onda de 400 nm. Por otro lado, el contacto n dopado debería exhibir también rendimientos similares a los previamente descritos para el contacto tipo p, pero ahora, para controlar la respuesta espectral en el rango de longitud de onda cercano a la región infrarroja cercana (alrededor de 800 nm).

20 En los sensores con una estructura p-i-i'n, la capa i' debería ser hecha de una aleación (por ejemplo: silicio-carbono, si se pretende optimizar la respuesta hacia el área de azules o de silicio germanio, si se pretende optimizar el pico de respuesta hacia el área del infrarrojo cercano). El espesor de esta capa debería ser tal que debería permitir el control de la anchura de la banda de absorción.

25 En los sensores con una estructura p-i-i'n la capa i' debería estar hecha de silicio nanoestructurado, cuyo control de la brecha óptica se hace bien incrementando el contenido de hidrogeno o por adición de pequeños aditivos al proceso de deposición, tales como metano o germanio. En estas condiciones sería posible controlar la posición del pico de respuesta espectral. El espesor de la capa debería, en estas condiciones, exceder siempre el anterior.

30 En estos sensores con una estructura p-i-i'n, la segunda capa i' debería ser hecha de una aleación (por ejemplo: silicio-carbono, si se pretenden optimizar la respuesta hacia las de azules, o silicio-germanio si se pretende optimizar el pico de respuesta hacia el área del infrarrojo cercano). El espesor debería ser tal que permita controlar la anchura de la banda de absorción pero siempre más pequeño que el anterior. Haciéndolo así, sería posible tener una estructura con un rango de respuesta de banda ancha o estrecha. Por otro lado, la sintonización final de la posición del pico se haría deformando la estructura (directa o inversa).

35 En los sensores con una estructura p-i-i'n, el espesor total de la estructura puede ser tan delgado como 0.3 micrómetros o tan grueso como 30 micrómetros, en función del tipo de materiales utilizados, si es amorfo o microcristalino.

40 De los sensores con una estructura MIS, la capa M debería ser hecha de un metal altamente conductivo con una alta función de trabajo (por ejemplo: oro o platino) y suficientemente delgado para ser transparente a la longitud de onda de luz de interés (típicamente, el espesor del orden de nanómetros) y al mismo tiempo para garantizar el efecto de rectificación deseado.

45 En los sensores con una estructura MIS, la capa I debe hacerse de un material individual o de multicapas dieléctrico altamente compacto y denso y con resistividad eléctrica alta (por ejemplo, dióxido de silicio o dióxido de tantalio; alúmina de titanio/óxido) pero suficientemente delgado para permitir el proceso de transporte del portador por sintonización.

50 En el sensor por una estructura MIS, la capa S debería estar hecha de una aleación de semiconductor, o no (por ejemplo: silicio-carbono, si se pretende optimizar la respuesta hacia el área de azules, o silicio-germanio, si se intenta optimizar el pico de respuesta hacia el área del infrarrojo cercano), lo que permite el crecimiento de una película gradual o abrupta entre dos capas adyacentes, en términos de brecha óptica (la capa I y el contacto "transparente" del electrodo). El espesor del semiconductor debería ser tal que debería permitir el control de la anchura de la banda de

absorción. Al hacerlo así, sería posible tener estructuras con una respuesta de banda de rango amplio o estrecho. Por otro lado, la sintonización fina de la posición del pico se haría deformando la estructura (directa o inversa).

En términos de sistemas de sensores de capa múltiple tándem/apilados, también pueden contener una estructura de pasador que trabaje como un dispositivo fotovoltaico, capaz de autoalimentar el sistema. Su integración (numero de celdas interconectadas en serie y su dimensión) se hace de acuerdo con las especificaciones para la polarización buscada, altamente relevante en sistemas portátiles.

Cualquiera de las estructuras previamente definidas puede ser encapsulada, por ejemplo por laminación.

10 La señal eléctrica (corriente o voltaje) se procesa de tal forma que los resultados mostrados aparezcan en forma analógica o digital, como se describió previamente para el caso de sistemas sensores individuales.

15 Para cada uno de los casos previamente referidos, los sensores producidos tienen una variación monótonica de corriente (o voltaje), que es capaz de ser trasladada completamente a una función polinómica hasta de grado 4 y ser linealizada (o representada por una función de orden x , en la cual x varía entre 1 y 0.5) por rangos de longitud de onda bien definidos.

20 Cualquiera que sea el caso previamente referido, la detección puede hacerse en modos de corriente directa o alterna. En el primer caso es necesario tener en cuenta la fotoseñal de fondo de referencia del ambiente, mientras que para el segundo caso esto no es necesario.

25 La presente invención se relaciona con un sistema y el proceso de la detección e identificación cualitativa y/o cuantitativa de una muestra biológica o de una solución acuosa de una composición biológica que cuando se funcionaliza con nanopartículas metálicas (por ejemplo secuencias específicas de ácidos nucleicos presentes en muestras biológicas), cambia su propio rango de absorción/emisión como función de las reacciones químicas.

Existe un cambio de color, el cual es una respuesta macroscópica de un fenómeno que ocurre a escala nanométrica. Para cada una de estas reacciones corresponde una diferente respuesta de absorción/emisión de luz incidente.

30 La sonda esta compuestas de nanopartículas de metal con tamaños de diámetro entre 5 y 30 nanómetros unidas por ejemplo a una secuencia conocida de ADN/ARN de acuerdo con el estado de la técnica [9, 11, 13] que exhiben un color que depende de la composición metálica, tamaño y geometría tales como nanopartículas de oro o aleaciones de oro. En el caso de nanopartículas de oro el color es rojo. En este caso el pico absorción se localiza entre 500 y 550 nanómetros, de acuerdo con la resonancia plasmódica de la superficie. Para otros colores, resultantes del uso de otros metales diferentes al oro, los desplazamientos del pico de absorción a otras longitudes de onda varían desde 400 nm hasta 800 nm, en brechas que pueden ser de alrededor de 50 nm de anchura, para cada caso específico.

40 El mecanismo de detección se basa en las propiedades ópticas de estas sondas funcionalizadas puesto que el pico de absorción cambia con función de la proximidad entre las partículas, regulado por ejemplo, por secuencias de ADN/ARN, variando las fuerzas iónicas del ambiente donde están contenidas las nanopartículas.

45 Así, cuando se preparan y funcionalizan diversas sondas de muestras biológicas que contienen nanopartículas de oro y un ADN/ARN dado, después de la adición de la sal es posible observar un cambio de color en el caso de un resultado negativo y ningún cambio de color en el caso de un resultado positivo.

El cambio de color es una respuesta macroscópica que se deriva de un fenómeno que ocurre a una escala nanométrica, donde el ADN/ARN puede reaccionar de una forma complementaria o no complementaria. Para cada una de estas reacciones, hay una respuesta diferente correspondiente de absorción a la luz incidente.

50 El espectro de absorción de la muestra compuesta por las sondas de nanopartículas de oro y las soluciones de composiciones biológicas acuosas, tales como pruebas de ADN/ARN y sal, representan dos máximos de absorción con una función Gaussiana como comportamiento cuyo pico esta centrado entre 510 y 540 nanómetros, que representa la interacción entre la sonda y el ADN/ARN en una forma complementaria (positiva), o centrado entre 615 y 645 nanómetros, lo cual representa reacciones no complementarias (negativas).

5 Por lo tanto, el color de la fuente de luz monocromática que se va a utilizar tiene que escogerse de acuerdo con las sondas funcionalizadas y las muestras biológicas seleccionadas, de una forma complementaria. En el caso de una muestra de color rojo (pico de respuestas espectral alrededor de 630 nm), se obtiene un alto nivel de absorción en la región espectral asociada con el color verde, esto es alrededor de 525 nm. Por lo tanto, debe seleccionarse una fuente de luz para la región asociada al verde.

10 La repuestas de detección corresponde a la diferencia entre los valores de referencia (haz de luz proyectado directamente sobre el sensor) y los valores obtenidos después de la inclusión del líquido biológico funcionalizado con las nanopartículas. Esta señal análoga se procesa apropiadamente mediante la electrónica adecuada y se presenta de forma análoga digital.

15 El condicionamiento electrónico de la respuesta de la señal involucra el uso de un circuito comparado al electrónico, que permite establecer la diferencia entre la señal de referencia y la señal de respuestas del haz de luz después de pasar por la composición biológica funcionalizada con nanosondas. La señal óptica de excitación puede se continua (dc) o pulsada (ac), que pasa a través de un filtro electrónico de paso de banda estrecho, y la señal análoga electrónica es subsecuentemente amplificada y/o convertida en otra forma de señal análoga o digital, de acuerdo con el formato de presentación deseado.

20 El sistema de detección se basa en un fotosensor que mide la diferencia de intensidad de luz de un haz de luz de radiación monocromática después de pasar a través de una muestra líquida biológica, por ejemplo un ADN mezclado con una nanosonda en el rango de temperatura de 5 a 45 °C.

25 La señal resultante de vida a la selección correcta del algoritmo de calibración de rectificación, es proporcional a la concentración de la muestra biológica.

30 Para cada uno de los casos anteriormente referidos, los filtros de paso de banda se utilizaran o incorporaran cada vez que se pretenda utilizar el sensor en ambientes de luminosidad no controlada, cuando pretendemos optimizar la resolución mínima de los fotosensores, especialmente cuando se utilizan señales de luz de excitación continua. En este caso los filtros coincidir con la fuente de luz utilizada.

35 Para cada uno de los casos anteriores, la señal electrónica que proviene del fotosensor o fotosensores, puede guiarse a través de una matriz de transistores de película delgada basados en óxidos iónicos semiconductores y eventualmente almacenados en un registrador de desplazamientos.

40 Para cada uno de los casos previamente referidos, la señal electrónica recibida por el sensor puede compararse, adquirirse, amplificarse o filtrarse mediante electrónica externa al sensor o embeberse en la misma. En caso se usaran circuitos comparadores y puertas lógicas basadas en óxidos transparentes iónicos, cuando se procese la señal y durante la conversión A/D.

45 Por lo tanto, el sistema de detección desarrollado se basa en un sistema de fotosensores que mide la diferencia de intensidad de luz de radiación monocromática, después de pasar a través de nanosondas no funcionalizadas y funcionalizadas con una muestra líquida biológica, por ejemplo ADN, en un rango de temperatura de 5 a 45 °C.

50 Al mismo tiempo el fotosensor se conecta con un circuito electrónico (por ejemplo un amplificador síncrono), o se integra con un conmutador (transistor de película delgada) y un circuito comparador y un amplificador de película delgada el cual permite obtener los resultados de las pruebas, de una forma singular o secuencial, bien sea utilizando un sistema discreto o integrado (disposición lineal de sensores subsecuentes, con la repuesta de pico espectral desviada, de acuerdo con el rango de longitudes de onda que se van a analizar), en términos cualitativos y/o cuantitativos. También tiene que señalarse que la medición llevada a cabo es relativa, y por lo tanto no depende de posibles degradaciones del sensor con el tiempo. Esto incrementa la confiabilidad de los datos.

La intensidad del haz de luz que alcanza el sensor en su región de longitud de onda, varía como función de las interacciones con la muestra debidas a que el pico de absorción máxima del líquido es el mismo o es cercano al del haz de luz, derivado de la presencia de las nanopartículas de oro.

El líquido biológico se coloca en el lado opuesto del fotosensor en el cual toma lugar la deposición de las capas del fotosensor obteniendo la ventaja de que el líquido no está en contacto directo con el sensor, sino más bien está en contacto con el lado libre del sustrato. Este hecho permite reutilizar el fotosensor, implicando un costo menor en el uso del sistema. Por otro lado el área de contacto de las nanosondas funcionalizadas con el sensor es lo suficientemente grande para permitir que se obtengan resultados rigurosos en una forma cualitativa y cuantitativa, sin necesidad de utilizar grandes cantidades en la prueba.

Estos sensores permiten la detección de un cambio de color asociado con un proceso químico, generando una señal eléctrica cuantificada, como función de:

- Longitud de onda de la luz emitida/absorbida por el medio;
- Desplazamiento del pico de absorción, como una función de la señal de referencia;
- Intensidad de la señal emitida/absorbida, como una función del número posible de fentomoles que pueden ser detectadas;
- Desplazamiento de la señal electrónica detectada (corriente o voltaje) por más de un sensor, colocados en estructuras de capa múltiple o integrados en disposiciones lineales per que tienen diferentes picos de absorción desviados/desplazados. En este caso, una de las estructuras muestra una respuesta espectral amplia y la otra (u otra) una respuesta espectral de banda estrecha, lo cual es una función de un grupo de niveles de detección que deben ser discriminados;
- Respuesta de frecuencia como función de la distorsión aplicada al sensor;
- Respuesta de intensidad de pico del sensor, controlada, como función del voltaje de distorsión aplicado.

Utilizando este detector se espera obtener los siguientes resultados:

- Incremento en la sensibilidad (tan baja como fentomoles de objetivo)
- Reducir la cantidad de líquido biológico necesario para cada prueba (muestras);
- Capacidad de miniaturización;
- Reutilización del sistema (la detección se hace en la parte posterior del sustrato transparente donde el fotosensor se deposita, de tal forma que no hay contacto directo entre el compuesto biológico y el material semiconductor), lo cual es una enorme ventaja en relación con todos los sistemas de hibridación conocidos en un medio heterogéneo-chips, microdisposición de sensores integrados, membranas;
- Posibilidad de tener una versión portátil y autoalimentada del sistema, para pruebas rápidas, tales como del tipo SI/NO (un modo fotovoltaico de funcionamiento está adherido dentro del fotosensor, en casos donde el tiempo de respuesta es suficiente para la aplicación prevista);
- Sistema autoalimentado (integración del sistema/sensor fotovoltaico);
- Capacidad de reutilización;
- Bajo costo.

Descripción de las Figuras

La Figura 1 representa una posible configuración del sistema de detección e identificación de secuencias de nucleótidos desarrollado-integración del proceso químico con el fotosensor.

A-sistema de detección.

B-mecanismo de detección.

En la parte superior del sistema de detección, se monta una fuente de luz de radiación monocromática (1), como por ejemplo un láser, el cual se pulsa mecánicamente con la ayuda de un monocromador (2), de manera que se reduzca el ruido y los efectos de la luz ambiental. El fotosensor se coloca en la parte inferior de la estructura (3), donde se coloca la gota que contiene el líquido biológico (5). El fotosensor (6 y 7) se conecta a un amplificador síncrono (4) que permite obtener los resultados de las pruebas. El líquido biológico (5), lo sonda y la muestra para probar, como por ejemplo

secuencias específicas de ADN/ARN, proteínas, se coloca sobre la superficie del fotosensor (6). Esta configuración tiene la ventaja de que el líquido no está en contacto directo con el sensor, sino más bien en contacto con el sustrato transparente vítreo, lo que permite la reutilización del fotosensor. El número (7) corresponde a la estructura (capas) de las cuales está hecho el sensor.

5

La Figura 2 representa la estructura de capas de los dispositivos presentados como fotosensores en la Figura 1 por los números 6 y 7.

10

Como fotosensores utilizamos dispositivos basados en estructuras de tipo p-i-n, (Figura 2a) y MIS (Figura 2b) depositado sobre un sustrato transparente.

15

En la Figura 2a) las letras p y n asociadas respectivamente con los números 9 y 13 se refieren a los contactos de carga inyector/detector, los números 10 y 12 corresponden a la letra i' y se refieren a las capas intrínsecas obtenidas a partir de una aleación; 11 corresponde a la letra i, y se refiere a la capa fotosensible de respuesta espectral ajustable, de acuerdo con su composición.

Las capas 8, 14 y 15 corresponden a los contactos del fotosensor.

20

En la Figura 2b) de las estructuras MIS, 16 corresponde a M lo que se refiere a un contacto tipo metálico, 17 corresponde a I, lo que se refiere a una nanocapa formada por un elemento dieléctrico, con altas propiedades de aislamiento y 18 corresponde a S la cual se refiere a una capa fotosensible de pico de absorción ajustable, de acuerdo con su composición.

25

La Figura 3 representa un esquema posible del circuito electrónico simple utilizado para la adquisición y procesamiento de la señal del fotosensor, el cual sustituye la electrónica externa mostrada en la Figura 1 por el número 4.

30

Por lo tanto un sensor (6, 7) se conecta a una fuente de voltaje (19) con el fin de proceder con su polarización. Esta fuente será controlada por un micro controlador (24) sabiendo que la polarización del sensor que se va a usar depende de los análisis que van a llevarse a cabo.

35

Existe un filtro (20) a la salida del sensor el cual permite reducir el ruido (luz ambiental) y optimiza la resolución mínima para la adquisición de resultados cuantitativos. Subsecuentemente, la señal eléctrica es amplificada por un circuito amplificador (21) y se compara con un circuito comparador (22) a una señal de referencia (23)-respuestas cualitativa, esta señal también se controla por un microcontrolador (24), la cual se envía subsecuentemente al microprocesador para el almacenamiento de datos extraprocésamiento y conversión A/D.

40

En el caso de tener un circuito compuesto por una disposición lineal integrada de sensores, existirá un circuito de conducción, compuesto por una clave de conmutación (transistor de película delgada) e integrado directamente con el sensor. Sobre él, pueden integrarse ahora el circuito comparador y amplificador de la señal resultante dentro del sensor.

45

La Figura 4 representa la estructura del dispositivo de una forma integrada, donde (6) representa el sustrato, como en la Figura 1; (25) la electrónica (clave de conmutación) con base en los óxidos iónicos transparentes con el de llevar a cabo el procesamiento de la señal, como se muestra en la Figura 3; (26) una estructura de aislamiento; (27) el contacto frontal; (28) el fotosensor con la estructura mostrada en la Figura 2; (29) contacto transparente posterior.

Descripción Detallada de la Invención

50

Como se explicó previamente los componentes principales del sistema son una fuente de luz monocromática, el fotosensor descrito y la electrónica adecuada para el procesamiento y adquisición de los resultados.

Subsecuentemente, se hace una descripción detallada de una posible configuración de la presente invención, ahora que pueden existir diversas configuraciones dependiendo de varios factores, tales como el tipo de fuente de luz (láser o diodos emisores de luz), tipo de electrónica utilizada para el procesamiento de la señal, tipo de fotosensor usado (individual o integrado), etc.

- 5 Se usa un fotosensor sencillo de silicio amorfo (6 y 7a) con una estructura p-i-n depositada sobre un sustrato de vidrio en el cual la respuesta espectral máximo puede ajustarse en un rango amplio del espectro visible tal como 530 nanómetros.
- 10 La fuente de luz (1) es un laser monocromático de longitud de onda cercana a la seleccionada anteriormente, tal como 532 nm (luz verde) y potencia tal como 5 mW, colocada perpendicular al fotosensor (6 y 7a) descrito previamente con una estructura tal como una estructura p-i-n, de tal forma que la luz incidente apunta exactamente sobre el centro geométrico del fotosensor (6 y 7a), reduciendo así la cantidad de luz reflejada cuando pasa a través del líquido biológico (5). La distancia es variable, como función de la fuente de poder de luz (1) entre 5 cm y 30 cm, preferiblemente 15 cm.
- 15 La longitud de onda de la fuente de luz (1), como por ejemplo 532 nm, corresponde con el pico de respuesta espectral optimizado del fotosensor, y se selecciona de una forma complementaria de acuerdo con las nanosondas metálicas usadas como se ha descrito previamente.
- 20 Pueden utilizarse sistemas de guía de luz, tales como fibras ópticas o lentes con el fin de optimizar la cantidad de luz incidente sobre la muestra.
- 25 La fuente de luz (1), como se describió previamente se pulsa a una frecuencia de por ejemplo 130 Hz, con el fin de eliminar el ruido asociado con la luz ambiental, siendo capaz por lo tanto de utilizar fuentes de luz continuas (1) y hacer uso de técnicas de pulsación eléctricas o mecánicas (2) para este haz de luz monocromático incidente utilizando aparatos externos (por ejemplo un monocromador, con el fin de pulsar mecánicamente la señal).
- 30 También, con el fin de reducir los efectos de la luz ambiental, pueden usarse filtros ópticos (20) los cuales están sintonizados específicamente para este fuente de luz (1), (por ejemplo, laser monocromático de longitud de onda de 532 nm) para utilizarse en la prueba.
- 35 El fotosensor (6 y 7) se deposita sobre la parte inferior de la estructura (3) y se optimiza para la fuente de luz (1) seleccionado de tal forma que se utilice en la prueba que esta siendo realizado. Si se requiere el desplazamiento del pico de la respuesta espectral del fotosensor (6 y 7) a otro rango, entonces pueden utilizarse fuentes de voltaje (19) con el fin de proceder a su polarización y de esta manera desplazar la respuesta espectral del fotosensor (6 y 7) al rango deseado.
- 40 Esta fuente de voltaje (19) se regula manualmente, puesto que la polarización del sensor (6, 7) depende de los análisis que se van a llevar a cabo.
- 45 El líquido biológico (5) se coloca en el lado opuesto del sustrato donde la estructura del fotosensor fue depositada (estructura p-i-n descrita previamente) obteniéndose a la ventaja de que el líquido no esta en contacto directo con el sensor, sino más bien en contacto con el posterior del sustrato que contiene el sensor. Este hecho permite reutilizar el fotosensor implicando un costo más bajo en el uso del sistema. Por otro lado el área de contacto es lo suficientemente grande para permitir resultados cualitativos y cuantitativos rigurosos y así no hay necesidad de utilizar una gran cantidad de muestra, permitiendo también una reducción de costes asociada con la muestra.
- 50 La fuente de luz (1), que esta localizada perpendicular al sensor, emitirá una radiación que pasa a través del líquido biológico (5) colocado sobre la superficie posterior del sustrato que contiene el foto sensor.
- La luz no absorbida por la gota de líquido biológico (5) pasa a través del sustrato vítreo (6) y es absorbida por el fotosensor, lo que convierte la señal de luz en una fotocorriente y/o un fotovoltaje (señal eléctrica).
- La señal eléctrica adquirida por el fotosensor (6 y 7) es comparada, sustraída, amplificada o filtrada por circuitos electrónicos externos al sensor, utilizando amplificadores síncronos (4), regulados a la misma frecuencia que la fuente de luz (1), obteniéndose así los resultados de la señal eléctrica generada por el fotosensor (6 y 7).

La respuesta de detección (R_{DET}) se mide como función de la variación de corriente o voltaje del dispositivo, específicos para cada longitud de onda e intensidad de luz utilizadas, que representa la diferencia entre los valores de referencia, lo que significa el valor de la lectura del haz de luz proyectado directamente sobre el sensor (R_{REF}) y el valor de la lectura después de haber colocado el líquido biológico sobre el sensor (R_{ADN}).

$$R_{DET} = R_{REF} - R_{ADN}$$

1. Fabricación y preparación de la muestra:

Pueden utilizarse diversos tipos de muestras biológicas sobre el sistema, y por lo tanto el caso de la identificación del ácido nucleico (ADN/ARN) se señala como caso de estudio.

La muestra de ADN/ARN se extrae de sangre, saliva, etc., por procedimiento utilizados comúnmente, por ejemplo, con kits de purificación existentes. Subsecuentemente, la muestra se purifica, y al etapa de purificación puede ser o no necesaria. En el caso de ARN la etapa de amplificación no es necesaria.

2. Preparación de las muestras que contienen sondas de nano partículas

El ADN/ARN purificado se mezcla entonces con sondas de nanopartículas, donde las nanopartículas están hechas de oro u otros metales, de acuerdo con el siguiente proceso:

El ADN/ARN, combinado con la sonda de nanopartículas de oro, se expone durante 10 minutos a 95 °C con el fin de desnaturalizar la doble cadena y/o estructura secundarias del ADN/ARN. Inmediatamente después, la muestra se deja enfriar durante 30 minutos a temperatura ambiente permitiendo que el ADN/ARN desnaturalizado se hibridice específicamente con la sonda de nanopartículas de oro.

Se añade entonces un electrolito (esto es NaCl) hasta una concentración final de 2 M.

Después de 15 minutos a temperatura ambiente (entre 5 y 45 °C) es posible observar los resultados como función del cambio colorimétrico.

3. Adquisición de los resultados

Luego, el líquido biológico, que contiene las muestras de ácido nucleico que van a ser detectadas o identificadas junto con las respectivas sondas de nano partículas de oro, se coloca sobre la parte posterior del fotosensor del sustrato, y se revela el resultado.

Por lo tanto, cuando se están preparando diversas solución que contienen sondas de nanopartículas de oro y muestras de ADN/ARN, y después de que la adición de sal es posible para observar los resultados, como un cambio de color en el caso de ser negativo o permaneciendo el color igual en el caso de ser positivo, lo que se caracteriza por que el fotosensor tiene diferentes señales eléctricas para cada caso. Esto corresponde a dos comportamientos lineales diferentes de los fotosensores, respectivamente para el cambio de color (asociados con la longitud de onda) y cambios en la intensidad de la luz "emitida" por las nanosondas .

Ejemplo

De acuerdo con lo que se ha descrito previamente en la descripción detallada, la configuración mostrada en la Figura 1 fue escogida para este Ejemplo.

Se utilizo un fotosensor de silicio amorfo sencillo, depositado sobre un sustrato vítreo (6); la fuente de luz (1) escogida fue un laser de estado solido con una longitud de onda de 530 nm, la cual esta asociada a la respuesta espectral máxima del fotosensor [29].

La fuente de luz (1) es pulsada mecánicamente a una frecuencia de 130 Hz y el fotovoltaje generado por el fotosensor se mide con la ayuda de un amplificador síncrono (4) utilizando la frecuencia de pulsación de laser como referencia.

5 La luz "emitida" no absorbida por las nanosondas pasa a través del sustrato vítreo (6) y es absorbida por el fotosensor, la cual convierte la señal en una fotocorriente o fotovoltaje. Puesto que el fotosensor trabaja en el modo fotovoltaje, no es necesaria una fuente de poder para alimentarlo. La luz emitida por el laser trabaja simultáneamente para inducir la variación en la absorción del líquido biológico, así como para activar el fotosensor.

10 La respuesta de detección (R_{DET}) se midió como función de la variación de corriente del dispositivo, significando la diferencia entre los valores de referencia, el valor de diferencia entre la lectura del haz de luz proyectado directamente sobre el sensor (R_{REF}) y el valor de la lectura después de haber colocado el líquido biológico sobre el sensor (R_{ADN}).

$$R_{DET} = R_{REF} - R_{ADN}$$

15 Aunque los valores de los parámetros R_{ADN} - R_{REF} han sido leídos en el modo de fotocorriente, los resultados obtenidos tienen unidades de voltaje, debido a la conversión llevada a cabo por el amplificador síncrono (4).

20 Los resultados tienen un comportamiento lineal fuerte como función de la concentración de la sonda, siendo posible hacer una focalización apropiada con un factor de correlación, mejor de 0.97.

$$Y(x) = -0.74 + 0.72x$$

25 Este hecho satisface la ley de Lambert-Beer, donde el incremento en la concentración de la sonda se traduce en un incremento en la absorción de luz incidente, un hecho que maximiza la diferencia de los valores entre R_{ADN} y R_{REF} .

30 El sistema propuesto se aplicó efectivamente para la detección de ADN. La sonda fue diseñada para ser complementaria con una región genómica específica de la subunidad β de la ARN polimerasa de *Mycobacterium tuberculosis* (agente de tuberculosis). Los resultados fueron obtenidos midiendo las respuestas del sensor a los cambios de color de una solución blanco, ADN no complementario y ADN complementario.

35 En esta prueba, se prepararon 4 soluciones, manteniendo la concentración de la nanosonda de Au constante a 2.5 nm, a saber: solución reguladora (solución 1), la cual se utiliza para evitar variaciones mayores en el pH de la solución; muestra con ADN no complementario (solución 2); muestras con ADN complementario de *M. tuberculosis* (soluciones 3 y 4).

40 Los resultados muestran que los líquidos utilizados absorben la radiación incidente. Esto sucede puesto que el fotosensor utilizado cubre la región del espectro visible completa, teniendo su pico optimizado para la región verde, de tal forma que aunque el cambio de color implica una diferencia en la absorción del compuesto biológico, el fotosensor continuará obteniendo una señal. Entre tanto, el blanco y el ADN no complementario absorben mucha menos radiación de la fuente de luz permitiendo una diferencia en la lectura cuando se comparan con el ADN complementario.

La diferencia en la lectura entre las soluciones 3 y 4 es también una prueba de que el sistema permite la cuantificación de las muestras, de acuerdo con la selección adecuada de un algoritmo de calibración.

45 En términos del líquido que forma una gota sobre la superficie del sensor, la influencia del efecto gota existe. Este fenómeno físico es debido tanto a la diferencia en índice de refracción entre el líquido y el aire, y la geometría de la gota (convexa), que actúa como un lente.

50 Al pasar de esto, la diferencia detectada entre los valores medidos para el ADN complementario y no complementario es significativa. Este resultado muestra la viabilidad del método utilizado, puesto que presenta una gran sensibilidad a los valores medidos, permitiendo de esta forma la detección de la presencia de ADN de *M. tuberculosis*, como se mencionó en el ejemplo anterior.

Referencias

- [1] Videira, Arnaldo, Engenharia Genética - Princípios e Aplicações. LIDEL (2001).
- [2] Kirk, B. W., Feinsod, M., Favis, R., Kliman, R.M. & Barany, F., Single nucleotide polymorphism seeking long term association with complex disease. *Nucleic Acids Res.* 30, 3295-3311 (2002).
- 5 [3] Whelen, A.C. & Persing, D.H., The role of nucleic acid amplification and detection in the clinical microbiology laboratory, *Annu. Rev. Microbiol.* 50, 349-373 (1996).
- [4] Bernard, P.S. & Wittwer, C.T., Real-Time PCR technology for cancer diagnostics. *Clin. Chem.* 48, 1178-1185 (2002).
- [5] Mackay, I.M., Arden, K.E. & Nitsche, A., Real-time PCR in virology. *Nucleic Acids Res.* 30, 1292-1305 (2002).
- 10 [6] Siitari, Harry. Nucleic acid diagnostics market - Unmet needs and product potential. National Technology Agency, Technology Review 125/2002, Helsinki (2002).
- [7] Storhoff, J.J., Lucas, A.D., Garimella, V., Bao, Y.P., Muller, U.R., Homogeneous detection of unamplified genomic DNA sequences based on colorimetric scatter of gold nanoparticle probes. *Nanotechnology.* 22, 883-887 (2004).
- [8] Storhoff, J.J., Marla, S.S., Bao, Y.P., Hagenow, S., Mehta, H., Lucas, A.D., Garimella, V., Patno, T., Buckingham, W., Cork, W., Muller, U.R., Gold nanoparticle-based detection of genomic DNA targets on microarrays using a novel optical detection system. *Biosensors and Bioelectronics* 19, 875-883 (2004).
- 15 [9] Batista, P., Doria, G., Henriques, D., Pereira, E., Franco, R., Colorimetric detection of eukaryotic gene expression with DNA-derivatized gold nanoparticles. *Journal of Biotechnology* 119, 111-117 (2005).
- [10] Cao, Y.C., Jin, R., Thaxton, C.S., Mirkin, C.A., A two-color-change, nanoparticle-based method for DNA detection. *Talanta* 67, 449-455 (2005).
- 20 [11] Storhoff, J.J., Elghanian, R., Music, R.C., Mirkin, C.A., Letsinger, R.L., One-pot colorimetric differentiation of polynucleotides with single base imperfections using gold nanoparticle probes. *J. Am. Chem. Soc.* 120, 1959-1964 (1998).
- [12] Sato, K., Hosokawa, K., Maeda, M., Rapid aggregation of gold nanoparticles induced by non-cross-linking DNA hybridization. *J. Am. Chem. Soc.* 125, 8102-8103 (2003).
- 25 [13] Lee, P.C., Meisel, D., Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols. *J. Phys. Chem.* 86, 3391-3395 (1982).
- [14] R. Martins, H. Aguas, I. Ferreira, E. Fortunato S. Lebib, P. Roca i Cabarrocas, L. Guimarães, Polymorphous silicon films deposited at 27.12 MHz, *Advanced Materials CVD*, 9 (6), 333 (2003).
- [15] S. Zhang, L. Pereira, Z. Hu, L. Raniero, E. Fortunato, I. Ferreira and R. Martins 'Characterization of nanocrystalline silicon carbide films'. *Journal of Non-Crystalline Solids*, Vol.352, issue-9, 1410-1415. (2006).
- 30 [16] L. Raniero, I. Ferreira, L. Pereira, H. Aguas, E. Fortunato and R. Martins 'Study of nanostructured silicon by hydrogen evolution and its application in p-i-n solar cells'. *Journal of Non-Crystalline Solids*, Vol.352, issue-9 (2006), 1945-1948 (2006).
- [17] I. Ferreira, L. Raniero, E. Fortunato and R. Martins 'Electrical properties of amorphous and nanocrystalline hydrogenated silicon films obtained by impedance spectroscopy'. *Thin Solid Films*, Vol. 511-512 (2006), pp. 390-393.
- 35 [18] S. Zhang, L. Raniero, E. Fortunato, I. Ferreira, H. Águas, R. Martins, 'Amorphous silicon-based PINIP structure for color sensor'. *Thin Solid Films*, 487 (1-2), 268-270 (2005).
- [19] L. Raniero, N. Martins, P. Canhola, S. Zhang, S. Pereira, I. Ferreira, E. Fortunato, R. Martins. 'Influence of the layer thickness and hydrogen dilution on electrical properties of large area amorphous silicon p-i-n solar cell', *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 87 (1-4), 349-355 (2005).
- 40 [20] Y. Xu, Z. Hu, H. Diao, Y. Cai, S. Zhang, X. Zeng, H. Hao, X. Liao, E. Fortunato and R. Martins 'Heterojunction solar cells with n-type nanocrystalline silicon emitters on p-type c-Si wafers'. *Journal of Non-Crystalline Solids*, Vol.352, issue-9, 1972-1975 (2006).
- [21] H. Águas, L. Pereira, D. Costa, E. Fortunato, R. Martins. 'Linearity and sensitivity of MIS Position Sensitive Detectors Using MIS structures'. *Journal of Materials Science*, 40 (6), (2005), pp. 1377-1381.
- 45 [22] E. Fortunato, L. Pereira, H. Águas, I. Ferreira, R. Martins 'Flexible a-Si:H Position Sensitive Detectors', *IEEE*, 93 (7), 1281-1286 (2005).
- [23] A. Pimentel, A. Gonçalves, A. Marques, R. Martins and E. Fortunato 'Role of the thickness on the electrical and optical performances of undoped polycrystalline zinc oxide films used as UV detectors'. *Journal of Non-Crystalline Solids*, Vol.352, issue-9 (2006), pp. 1448-1452.
- 50 [24] P. Canhola, N. Martins, L. Raniero, S. Pereira, E. Fortunato, I. Ferreira, R. Martins 'Role of annealing environment on the performances of large area ITO films produced by rf magnetron sputtering'. *Thin Solid Films*, 487 (1-2) (2005) pp. 271-276.
- [25] R. Martins, P. Barquinha, A. Pimentel, L. Pereira, and E. Fortunato. 'Transport in high mobility amorphous wide

- band gap indium zinc oxide films'. *Phys. stat. sol. (a)* 202, No. 9, (2005), pp. R95- R97.
- [26] E. Fortunato, P.M.C. Barquinha, A.C.M.B.G. Pimentel, A.M.F. Gonçalves, A.J.S. Marques, L.M.N. Pereira, R. Martins. 'Fully transparent ZnO thin film transistor produced at room temperature'. *Advanced Materials*, 17, 5, 590-594 (2005).
- 5 [27] E. Fortunato, P. Barquinha, A. Pimentel, A. Gonçalves, A. Marques, L. Pereira, R. Martins. 'Recent advances in ZnO transparent thin film transistors'. *Thin Solid Films*, 4487 (1-2) (2005) pp. 205-211.
- [28] P. Barquinha, A. Pimentel, A. Marques, L. Pereira, R. Martins and E. Fortunato 'Influence of the semiconductor thickness on the electrical properties of transparent TFTs based on indium zinc oxide'. *Journal of Non-Crystalline Solids*, Vol.352, issue1-9 (2006), pp. 1749-1752.
- 10 [29] L. Raniero, Produção, e Caracterização de Células Fotovoltaicas de Silício Nano-estruturado produzido por plasma de 27.12 MHz, Tese de doutoramento, defendida na UNL, Maio de 2006.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Sistema para detección, identificación y cuantificación en material biológico, compuesto por una o más fuentes de luz (1) combinado con uno o más fotosensores ópticos (6 y 7) y diversos componentes electrónicos (4), necesarios para obtener/procesar la señal emitida caracterizado por:
- 10 a) La fuente de luz (1), pulsada (2) o no, compuesta de láseres de estado sólido de baja energía o diodos emisores de luz, cuyo rango de longitud de onda está localizado entre 400 y 800 nm con una intensidad de luminosidad controlable que varía entre los valores de 0.01 mW/cm^2 y 100 mW/cm^2 ;
- 15 b) El fotosensor, sencillo (6 y 7a) y (6 y 7b) o integrado (6, 4 y 7) compuesto de películas delgadas de silicio amorfo o nanocristalino o microcristalino y/o por semiconductores de cerámica tales como IGZO, IAgZO, SnZIO, GZIO, CuOIZ, GITO, entre otros, y basado en estructuras tipo p-i-n o MIS, que funciona en un rango de longitudes de onda desde el infrarrojo hasta el ultravioleta, y prevé una información cualitativa y cuantitativa basada en la hibridación específica y selectiva de sondas funcionalizadas con nanopartículas de metal;
- 20 c) Siendo provista la eliminación del sistema a través de una fuente de energía convencional o a través de baterías fotovoltaicas, que dan portabilidad al sistema, siendo focalizada la luz emitida sobre la muestra, preferiblemente utilizando microlentes, siendo la muestra o muestras no fijadas físicamente al sensor o sensores, colocando la muestra biológica referida (5) sobre el lado opuesto (6) del sustrato donde se deposita el fotosensor (6 y 7).
- 25 2. Sistema para la detección, identificación y cuantificación de material biológico, de acuerdo con la Reivindicación 1, caracterizado por que el fotosensor (6 y 7) es sensible al color y a la intensidad de la luz; porque tiene una responsividad entre 10 y 10^8 para el rango de longitud de onda que se va a usar; por que tiene una relación señal a ruido por encima de 3 dB; por que tiene tiempos de respuesta superiores a $50 \mu\text{s}$; por que tiene corrientes de saturación de menos de 10^{-7} A/cm^2 ; y para lleva acabo el pico de absorción y el control responsividad respectiva a través del contenido de hidrogeno o de la aleación de la capa o capas fotosensibles que constituyen el sistema y/o por polarización adecuada del sensor.
- 30 3. Sistema para detección, identificación y cuantificación de material biológico de acuerdo con las Reivindicaciones previas, caracterizado por que el fotosensor (6 y 7) es capaz de producir una variación monotónica de la señal eléctrica (corriente o voltaje), que es proporcional a la concentración de la muestra bilógica (5), cuando se seleccionan la calibración correcta y el algoritmo de corrección.
- 35 4. Sistema la detección, identificación y cuantificación de material biológico, de acuerdo con las Reivindicaciones previas, caracterizado por que el fotosensor (6 y 7) es capaz de proporcionar la energía necesaria para su autopolarización.
- 40 5. Sistema para detección, identificación y cuantificación de material biológico, de acuerdo con las Reivindicaciones previas, caracterizado por que el fotosensor (6 y 7) es producido sobre cualquier tipo de sustrato (6), tal como celulósico, polimérico, vítreo, cerámico y metálico, siendo este transparente al rango de longitud de onda de interés y micromaquinado o no, sobre el lado opuesto donde se deposita el fotosensor.
- 45 6. Sistema para detección, identificación y cuantificación de material biológico de acuerdo con las Reivindicaciones previas, caracterizado por que los fotosensores integrados (6, 4 y 7) (6 y 7) son capaces de ser dispuestos en forma lineal, como disposiciones lineales de sensores, en forma de matriz o una configuración en tándem (dispositivos apilados).
- 50 7. Sistema para detección, identificación y cuantificación de material biológico, de acuerdo con las Reivindicaciones previas, caracterizado por que el cualquiera de las estructuras previamente citadas es capaz de ser empacada por laminación o no.

- 5
8. Sistema para la detección, identificación y cuantificación de material biológico, de acuerdo con la Reivindicación previa 5, caracterizado por que el fotosensor (6 y 7) esta basado en estructuras tipo pi'ii'n (6 y 7a) que incluyen contactos de carga inyector/ detector (9, 13); capa intrínseca basada en una aleación (10, 12); capa fotosensible de respuesta espectral ajustable (11), de acuerdo con su composición.
- 10
9. Sistema para la detección, identificación y cuantificación de material biológico, de acuerdo con las Reivindicaciones previas, caracterizado por que el fotosensor (6 y 7) esta basado en estructuras MIS (6 y 7b), que incluyen un contacto tipo metálico (16), una nanocapa compuesta de un elemento dieléctrico, con altas propiedades de aislamiento (17) y una capa fotosensible de pico de absorción ajustable (18), de acuerdo con su composición.
- 15
10. Sistema para la detección, identificación y cuantificación de material biológico, de acuerdo con la Reivindicación 1, caracterizado por que la fuente de luz (1) es un conjunto de estado solido, de espectro de radiación bien definido y extremadamente estrecho, que cubre eventualmente todo el espectro de la región visible.
- 20
11. Sistema para la detección, identificación y cuantificación de material biológico, de acuerdo con las Reivindicaciones precedentes, caracterizado por que la fuente de luz (1) es monocromática, controlable y con potencias de salida de 100 a 0.01 mW/cm².
- 25
12. Sistema para la detección, identificación y cuantificación de material biológico, de acuerdo con las Reivindicaciones precedentes, caracterizado por una fuente de luz (1), un fotosensor (6 y7) conectados a una fuente de voltaje controlada (19) y mediante un microcontrolador (24), un filtro (20), un circuito amplificador (21), un circuito comparador (22), un generador de señal de referencia (23), conectado a un microcontrolador y a un microprocesador fijo o portátil.
- 30
13. Sistema para la detección, identificación y cuantificación de material biológico, de acuerdo con las Reivindicaciones previas , caracterizado por:
- 35
- a) El fotosensor (6 y 7) conectado a la fuente de voltaje (19), con el fin de proceder a su polarización;
 - b) La fuente de voltaje (19) controlada por un microcontrolador (24);
 - c) Un filtro (20) que existe a la salida del sensor (6, 7);
 - d) El filtro (20) conectado a un circuito amplificador (21);
 - e) El circuito amplificador (21) conectado al circuito comparador (22) el cual genera un señal de referencia (23)-respuesta cualitativa, siendo esta señal controlada también por un microcontrolador (24);
 - f) Todos los elementos previos conectados a un microprocesador, para almacenamiento de datos, procesamiento de datos y conversión A/D.
- 40
14. Proceso para la detección, identificación y cuantificación de material biológico, caracterizado por el uso del sistema descrito en las Reivindicaciones anteriores y sondas de nanopartículas metálicas, preferiblemente oro, con la integración de sensores sencillos (6 y 7) o tándem/multicapa (6 y 7a), (6 y 7b) con base en la tecnología de película delgada de silicio y sus aleaciones, con fuentes de luz monocromáticas y controlables (1), de nuevo de acuerdo con las Reivindicaciones previas.
- 45
15. Proceso para la detección, identificación y cuantificación de material biológico, de acuerdo con la Reivindicación 14, caracterizado por:
- 50
- a) Preparar soluciones de sonda de nanopartículas metálicas, preferiblemente oro, de diámetro entre 5 y 30 nanómetros;
 - b) Mezclar la muestra de ácidos nucleicos que va a ser detectada y/o identificada con la sonda en un intervalo de temperaturas entre 5 y 45 °C;
 - c) Promover el enlazamiento/agregación de sondas de nanopartículas metálicas a la muestra debido a una variación de la fuerza iónica en el medio de solución;

- d) Colocar las fuentes resultantes, o líquido biológico (5) sobre la superficie posterior del fotosensor (6) del sistema de detección definido en las Reivindicaciones 1 a 14, sin tener un contacto directo entre las sondas de nanopartículas de oro y el sensor (6), para poshibridización.
- 5 16. Uso del sistema de proceso para detección, identificación y cuantificación de material biológico, de acuerdo con las Reivindicaciones precedentes, caracterizado por que es aplicable a la detección e identificación cualitativa y cuantitativa de material genético presente en una muestra biológica.
- 10 17. Uso del sistema de proceso para la detección, identificación y cuantificación de material biológico, de acuerdo con las Reivindicaciones previas, por que se basa en un método colorimétrico, cuyo cambio de color se detecta mediante un sensor de fibra óptica, de acuerdo con:
- 15 a) La longitud de onda de la luz emitida/absorbida por el medio;
 b) El desplazamiento de longitud de onda, como función de la señal de referencia;
 c) Intensidad de la señal emitida/absorbida, como función del número de femtomoles capaces de ser detectadas;
 d) Cambio en la intensidad de la señal eléctrica capaz de ser detectado (corriente o voltaje) por más de un sensor, dispuesto en una configuración tándem/multicapa donde el pico de absorción asociado con cada estructura apilada puede desplazarse;
 20 e) Respuesta a frecuencia, como función de la polarización aplicada al sensor;
 f) Respuesta de pico de intensidad controlable, como una función del voltaje de polarización aplicado.
- 25 18. Uso de un sistema fijo o portátil y proceso para la detección, identificación y cuantificación de material biológico, de acuerdo con las Reivindicaciones precedentes, caracterizado por la configuración de los sistemas de detección y/o de identificación y/o cuantificación de sistemas de muestras de soluciones de compuesto biológicos, tal como ácidos nucleicos, oligonucleótidos complementarios a secuencias específicas de ADN/ARN, proteínas, tales como anticuerpos y/o antígenos relacionados con ciertas enfermedades, presentes en una muestra biológica.

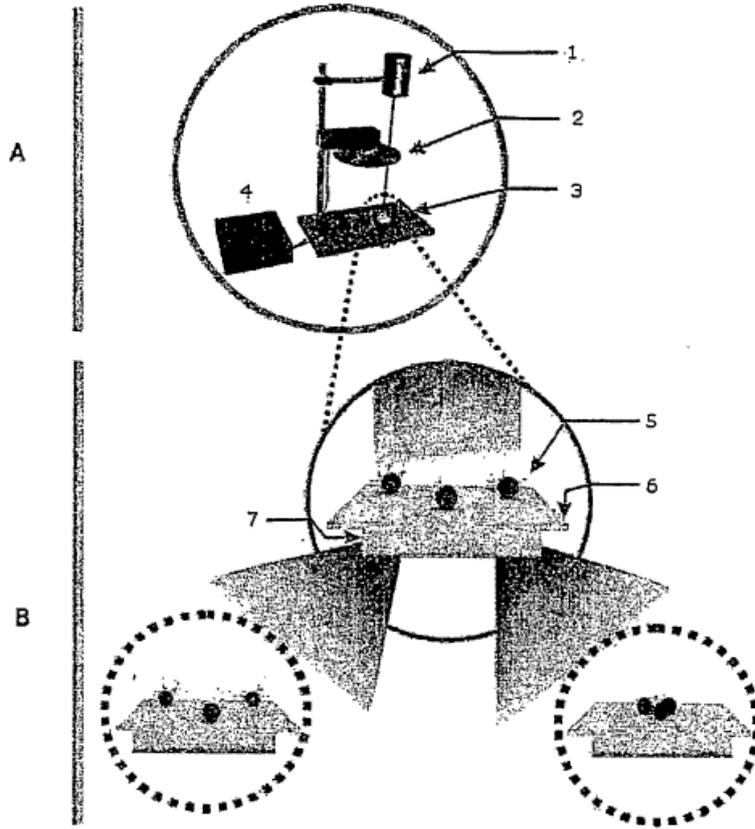


Figura 1

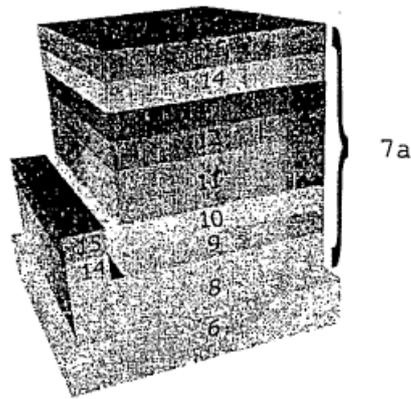


Figura 2a

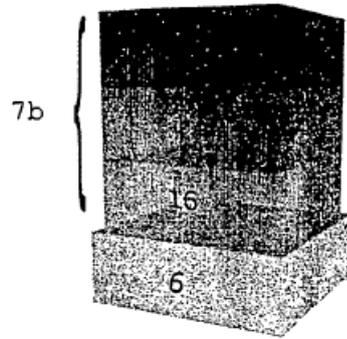


Figura 2b

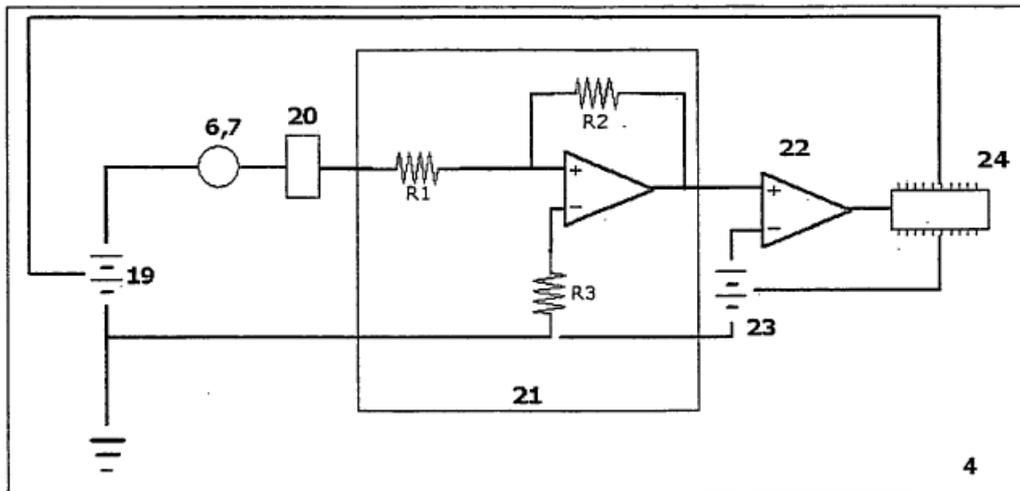


Figura 3

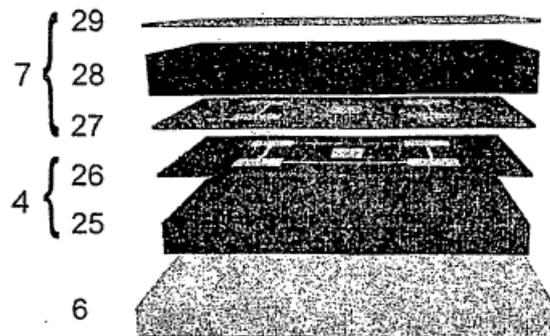


Figura 4