

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 390 403**

51 Int. Cl.:  
**G01R 33/12** (2006.01)  
**G01N 33/543** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **09734585 .4**  
96 Fecha de presentación: **22.04.2009**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2274633**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **19.01.2011**

54 Título: **Sensores de nanopartículas magnéticas espintrónicas con un área activa localizada en una pared de dominio magnético**

30 Prioridad:  
**23.04.2008 IT TO20080314**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**12.11.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**12.11.2012**

73 Titular/es:  
**POLITECNICO DI MILANO (100.0%)**  
**Piazza Leonardo da Vinci 32**  
**20133 Milano, IT**

72 Inventor/es:  
**BERTACCO, RICCARDO y**  
**VAVASSORI, PAOLO**

74 Agente/Representante:  
**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

ES 2 390 403 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

Sensores de nanopartículas magnéticas espintrónicas con un área activa localizada en una pared de dominio magnético

## ANTECEDENTES

5 Campo técnico

La presente invención se refiere generalmente a sensores de nanopartículas magnéticas y a procedimientos de reconocimiento molecular, adecuados para aplicaciones en varios campos distintos.

10 Como tal, el reconocimiento biomolecular es la interacción entre biomoléculas, que tienen una afinidad mutua o que presentan algún tipo de complementariedad. Ejemplos de dichas interacciones son la hibridación ADN-ADN, el reconocimiento anticuerpo-antígeno y el enlace ligando-receptor [H.A. Ferreira y col., IEEE Transactions on Magnetics 41, 4140 (2005)].

Descripción de la técnica relacionada

15 El reconocimiento biomolecular está en realidad omnipresente en la vida, ya que constituye la base del funcionamiento de los mecanismos celulares. Ejemplos evidentes son la replicación del código genético, la generación de enzimas, la fabricación y modificación de glúcidos de proteína y ácidos nucleicos, el transporte intracelular y extracelular, el metabolismo celular, por mencionar algunos de los procesos biológicos más comunes. Por otro lado, más usos familiares del reconocimiento biomolecular comprenden pruebas de embarazo, verificación del grupo sanguíneo, escrutinio genético y tratamientos de cáncer dirigidos a sitio, actualmente en desarrollo. Está claro que la detección del reconocimiento biomolecular es más y más importante en campos tales como el cuidado sanitario, la industria farmacéutica, el análisis medioambiental y, en general, en aplicaciones biotecnológicas.

20 En general, la detección da como resultado la utilización de una biomolécula conocida que se usa de sonda para una muestra de ensayo, en busca de un analito diana específico. Una estrategia habitual para detectar moléculas biológicas es unir un marcador a la molécula diana, lo que produce una señal observable externamente. Tradicionalmente, esto se implementa mediante el uso de un reconocimiento molecular entre la molécula diana y un receptor específico (por ejemplo un anticuerpo) etiquetado con el marcador. El marcador puede ser un radioisótopo, una enzima o una molécula fluorescente, como en el caso de las técnicas de LIF (Fluorescencia Inducida por Luz, en sus siglas en inglés). Recientemente también se han usado, como marcadores para biodetección, micropartículas y nanopartículas magnéticas, debido a sus ventajas con respecto a los demás marcadores. Las propiedades magnéticas de las nanopartículas son estables con el tiempo, ya que el magnetismo no se ve afectado ni por la química de los reactivos, ni se ven sometidos a fotoblanqueo (un problema relacionado con el uso de marcadores fluorescentes). Además, en aplicaciones biológicas, generalmente no existe una señal de ruido de fondo significativa, y los campos magnéticos no se ven apantallados por los reactivos o por biomateriales en disolución acuosa. Además, se puede usar el magnetismo para manejar de forma remota las partículas magnéticas. Cabe destacar que el tamaño de las partículas magnéticas debería ser tan reducido como sea posible para introducir la mínima perturbación posible con respecto a la afinidad entre las moléculas sonda y las moléculas diana. En cualquier caso, es necesario encontrar un compromiso entre este último aspecto y la necesidad de un momento magnético, dimensionado de tal modo que se pueda detectar con un sensor específico con una relación señal-ruido apropiada. Hasta ahora, varios grupos de investigación han usado partículas con un diámetro de entre unas pocas micras y 16 nm.

40 En los últimos años, se han desarrollado multitud de dispositivos de detección de campos magnéticos muy sensibles, tal como los sensores de magnetorresistencia gigante (GMR) [M.N. Baibich y col., Phys. Rev. Lett. 61 (21), 2472-2475 (1988)] y los sensores magnéticos de válvula de espín [B. Dieny y col., J. Appl. Phys. 69 (8), 4774 (1991); P.P. Freiras y col., Sens Actuat A Phys, 81 (1-3), 2 (2000)] que permiten la medición de campos magnéticos extremadamente débiles, tales como los generados por una única micropartícula magnética. Además de los sensores GMR, se ha demostrado la detección de partículas magnéticas individuales con sensores Hall de silicio miniaturizados [P.A. Besse y col., Appl. Phys. Lett. 80 (22), 4199 (2002)] y sensores de efecto Hall plano, basados en películas delgadas de Permalloy (aleación FeNi) [L. Ejsing y col., Appl. Phys. Lett. 84 823), 4729 (2004)]. Más recientemente, se han aplicado sensores de magnetorresistencia de túnel (TMR) al reconocimiento molecular, basados en uniones de túnel magnético (MTJ) [W. Shen y col., Appl. Phys. Lett. 2008, 103, 07A306], debido a su superior sensibilidad y estabilidad con respecto a la temperatura. El uso de magnetorresistencia anisotrópica en sensores de anillo, como detectores de partículas sensibles, ha sido sugerido por Miller y col. [M.M. Miller y col., Appl. Phys. Lett. 81, 2211 (2002)] y, más recientemente, dicha estrategia ha sido extendida por L. Llandro y col. [L. Llandro y col., Appl. Phys. Lett. 91, 203904 (2007)] a sensores de anillo multi-capas (válvula de pseudo-espín) basados en el efecto de magnetorresistencia gigante (GMR). En el primer caso, el sensor de anillo fue fabricado en NiFe y se diseñó para detectar la componente radial del campo creado por una microesfera individual (diámetro 4,3 micras), magnetizada por un campo magnético alterno. En el segundo caso, se presenta la detección de una microesfera superparamagnética con un diámetro de 4 micras, usando un sensor de anillo de válvula de pseudo-espín. En ausencia de la partícula, la magnetización de la capa libre del sensor se modificada por un campo

magnético externo periódico, de tal modo que cada vez que se establece una configuración de alineamiento anti-paralelo de las capas magnéticas se genera un pico de GMR. Una vez que se ha colocado una partícula magnética sobre el sensor, la partícula apantalla al campo magnético externo y provoca un cambio en los campos externos necesarios para revertir la capa libre. Con el fin de comparar varios sensores de reconocimiento biomolecular, se han de tener en cuenta los siguientes parámetros:

1) Sensibilidad biológica – corresponde a la capacidad para detectar concentraciones bajas del analito diana en muestras biológicas, y normalmente viene dada en términos de límite de detección (LOD); un LOD bajo corresponde a una alta sensibilidad biológica;

2) Rango dinámico – dicho parámetro indica el rango de concentración del analito, que puede detectarse con el sensor, operando en un régimen lineal en un ensayo biológico dado.

En algunos casos, la sensibilidad biológica no es un problema, ya que se pueden aplicar procesos de amplificación que permiten un aumento en la concentración de analito, tal como la reacción en cadena de polimerasa (PCR), para el ADN en genómica. En otras aplicaciones (tal como proteómica), sin embargo, no existen métodos adecuados para la amplificación, y por tanto se requiere una elevada sensibilidad biológica.

El rango dinámico es una característica que a menudo entra en conflicto con la sensibilidad biológica. Los sensores, diseñados para detectar partículas individuales, no son capaces de contabilizar números elevados de moléculas, por lo que su aplicación en mediciones de concentración de analitos se vuelve problemática.

Además, el artículo de P. Vavassori y col., Appl. Phys. Lett. 91, 093114 (2007), sobre anillos cuadrados de Permalloy aplicados al campo de almacenamiento magnético, es útil para comprender en su plenitud el contenido de la presente invención.

#### SUMARIO DE LA INVENCION

En vista de los problemas mencionados anteriormente, el objeto de la invención es un sensor para detectar la presencia de una nanopartícula magnética como se define en la reivindicación 1 anexa. En las reivindicaciones dependientes se presentan realizaciones particulares del sensor.

Otro objetivo adicional de la invención es un conjunto de sensores para detectar moléculas diana como se define en la reivindicación 7 anexa. En las reivindicaciones 8-11 dependientes se definen realizaciones particulares del conjunto de sensores.

Otro objetivo de la invención es un método para detectar moléculas diana como se define en la reivindicación 12 anexa.

De acuerdo con los ejemplos particulares, el sensor, el conjunto de sensores y el método de detección de acuerdo con la invención están basados en variaciones de la resistencia eléctrica, debidas a variaciones en la configuración de la magnetización en una nanoestructura (efecto de magnetorresistencia anisotrópica, AMR), en particular en un área confinada al vértice de una esquina de dicha nanoestructura (área de detección). La configuración de magnetización puede manejarse de un modo controlado aplicando un campo externo y se puede sondear sin ambigüedad a través de medidas magnetorresistivas. La claridad y la alta predictibilidad de la transición entre las diferentes configuraciones de magnetización permiten el uso de la nanoestructura para detectar nanopartículas. La proximidad de una nanopartícula magnética afecta a los valores del campo externo requerido para modificar la configuración de magnetización, proporcionando con ello un modo práctico para detectar la presencia de la misma.

Por un lado, se puede obtener la detección de una única molécula marcada con una pequeña nanopartícula, ya que el efecto de una nanopartícula magnética individual sobre la configuración micromagnética de la nanoestructura es suficientemente fuerte. Esto es debido al hecho de que la pared del dominio y las partículas magnéticas tienen dimensiones comparables.

Además, se pueden agrupar múltiples sensores en un conjunto según las configuraciones de nanoestructuras, lo que permite una detección efectiva y la contabilización de múltiples nanopartículas magnéticas, lo que permite una definición cuantitativa de la concentración molecular en muestras biológicas, pudiendo alcanzarse unos límites de detección muy bajos.

El documento "Paramagnetic beads surfing on domain walls", Helseth y col., Physical review. E, volumen 67, nº 4, Parte 1, Abril de 2003, página 42401, describe una técnica en la que la posición por encima de la pared de dominio de las partículas paramagnéticas en disolución acuosa puede ser desestabilizada realineando el momento magnético de las partículas con un campo magnético externo.

El documento US-A-2007/047156 describe un dispositivo lógico magnético que consiste en un primer sustrato plano para un circuito eléctrico y una pluralidad de segundos sustratos planos para un circuito magnético.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Otras características y ventajas resultarán evidentes tras la siguiente descripción, con referencia particular a las figuras anexas, proporcionadas únicamente a modo de ejemplo no limitativo, en las que:

Figura 1: es una vista de plano simplificada, que ilustra un sensor individual de acuerdo con la invención.

5 Figura 2a: ilustra el sensor de la Figura 1 en una primera configuración de espín con una pared de dominio transversal cabeza-cabeza en una esquina del sensor y configuración de vórtice en los discos terminales.

Figura 2b: ilustra dicho sensor en una segunda configuración de espín, en donde la pared de dominio de la Figura 2a es eliminada aplicando un campo magnético paralelo a uno de los extremos de esquina, con una intensidad superior a la media predeterminada, y retirando posteriormente dicho campo.

10 Figura 3: ilustra una operación de inicialización del dispositivo de la Figura 1.

Figura 4: ilustra el cambio del dispositivo de la Figura 1 entre las configuraciones de espín de las Figuras 2a y 2b.

Figura 5: ilustra un principio de operación del dispositivo de la Figura 1 para detectar una nanopartícula magnética.

15 Figura 6: es un gráfico que muestra el campo magnético requerido para eliminar la configuración de espín de la Figura 2a, en ausencia de nanopartículas magnéticas (línea sólida), y con una nanopartícula superparamagnética (partícula magnética que adquiere un momento magnético solo en presencia de un campo externo) dispuesta en la pared de dominio a una distancia vertical de 60 nm desde la superficie de la nanoestructura, que tiene un diámetro de 50 nm (línea discontinua) y 100 nm (línea discontinua y punteada), respectivamente.

Figura 7a: ilustra gráficos que representan el momento magnético de partículas superparamagnéticas que tienen un diámetro de 50 nm y de 100 nm (y una magnetización de saturación de  $3 \cdot 10^5$  A/m), en función del campo aplicado.

20 Figura 7b: muestra un diagrama vector de la fuerza que actúa sobre una nanopartícula superparamagnética con un diámetro de 50 nm sobre un plano a 200 nm de la superficie superior del dispositivo inicializado, como en la Figura 2a.

25 Figura 8: es un conjunto de gráficos de contorno de intensidad de la fuerza atractiva que actúa sobre una nanopartícula superparamagnética (cuyo momento magnético en función del campo se representa en la Figura 7a) con un diámetro de 50 nm y 100 nm, respectivamente, sobre los planos a 200, 100 y 60 nm desde la superficie de la nanoestructura, con la configuración de espín de la Figura 2a (columna central y derecha), y después de la eliminación de dicha configuración (columna izquierda).

Figura 9: representa simulaciones micromagnéticas de dos nanoestructuras de acuerdo con la Figura 1, unidas la una a la otra.

30 Figuras 10a y 10b: muestran esquemáticamente una porción de un conjunto de sensores de la Figura 1, de acuerdo a una configuración en paralelo y de acuerdo a una configuración en serie, respectivamente.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

35 Los dispositivos y los métodos descritos en el alcance de la presente invención se refieren a nanoestructuras. Normalmente las nanoestructuras son estructuras que tienen al menos dos dimensiones inferiores a  $1 \mu\text{m}$  (por ejemplo dimensiones nanométricas). Incluso aunque los límites exactos de la clase nanoestructura no pueden definirse en realidad por un valor numérico de una dimensión concreta, sin embargo dicha clase es claramente reconocible por los especialistas en la técnica.

40 La presente invención se refiere a un sensor para detectar nanopartículas magnéticas individuales y a un conjunto de sensores para detectar una pluralidad de nanopartículas magnéticas. Como quedará más claro en la siguiente descripción, el sensor descrito puede emplearse para llevar a cabo una detección molecular individual y/o puede emplearse en sistemas para síntesis a nivel de moléculas individuales y/o el análisis a nivel de molécula individual. El conjunto de sensores se emplea para detectar la concentración de moléculas diana, a las cuales se han ligado nanopartículas magnéticas como marcadores.

45 El conjunto de biosensores comprende convencionalmente un soporte 1, sobre el cual se dispone una pluralidad de sitios de detección (indicados como DS en las Figuras 10a y 10b), a las cuales se asocian las respectivas moléculas de unión, adaptadas para unirse selectivamente a las moléculas diana.

50 Al final de la presente invención, la expresión "molécula de unión" se refiere, por ejemplo, a anticuerpos, cadenas de ácidos polinucleicos (ADN o ARN) o receptores moleculares capaces de unirse selectivamente, es decir de "reconocer", moléculas diana potenciales, tales como, por ejemplo, ácidos polinucleicos, enzimas, proteínas, péptidos, anticuerpos, iones metálicos, etc., de los que es deseable determinar la presencia, ausencia o concentración en un ensayo.

En la Figura 1 se representa un sensor individual dispuesto en un soporte 1, que incluye una estructura plana ferromagnética 3. Dicha nanoestructura 3 se recubre típicamente con una pluralidad de capas (no mostradas) proporcionadas por un biosensor, que comprende una capa protectora de aislamiento, una capa polimérica para unir las moléculas de unión mencionadas anteriormente, y la capa de moléculas de unión. La nanoestructura 3 comprende al menos un área de detección 31 conformada como una tira doblada para formar una esquina. Más particularmente, el área de detección 31 corresponde a un vértice de dicha esquina.

La nanoestructura 3 también comprende una pareja de discos terminales 32, obtenidos en los extremos opuestos del área de detección 31. La nanoestructura 3 está hecha, por ejemplo, de Permalloy. En los ejemplos numéricos, que se proporcionan más adelante, se hará referencia a una nanoestructura fabricada en dicho material, que tiene un espesor de 40 nm y una anchura de la tira del área de detección de 50 nm, y unas dimensiones externas totales de  $0,3 \mu\text{m} \times 0,3 \mu\text{m}$ . Dichas dimensiones, sin embargo, se pueden reducir más sin detrimento para la funcionalidad del dispositivo.

En los extremos opuestos del área de detección 31, se dispone una pluralidad de contactos no magnéticos lin, GND, V1 y V2, que se pueden obtener, por ejemplo, mediante litografía de rayo electrónico sobre la superficie de la nanoestructura 3. Los contactos lin, GND, V1 y V2 son adaptados para unirse a los medios de medición (no ilustrado) adecuados para medir la respuesta magnetorresistiva de la nanoestructura 3 en los extremos del área de detección 31. En particular, en el ejemplo específico ilustrado, se presentan dos contactos de suministro lin y GND, adaptados para unirse al circuito de suministro de corriente, para inyectar una corriente eléctrica a través del área de detección 31, y dos contactos de lectura V1 y V2, adaptados para unirse a un circuito de medida, para medir la diferencia de potencial entre los extremos del área de detección 31. Los contactos mencionados anteriormente están fabricados, por ejemplo, en Au.

En referencia a las Figuras 2a y 2b, se muestran las dos configuraciones de espín, que pueden ser inducidas en la nanoestructura 3 aplicando un campo magnético a lo largo del bisector del ángulo formado por los dos extremos de la estructurada doblada (Figura 2a) o paralelo a uno de los extremos (Figura 2b). Más adelante, para mayor simplicidad, se hará referencia al sistema de coordenadas cartesiano, x, y, respectivamente paralelo a los extremos de dicho ángulo.

En la Figura 2a, se ilustra una primera configuración y comprende una pared de dominio magnético transversal cabeza-cabeza TW posicionado en la esquina del área de detección 31 y las estructuras de vórtice VS, formadas dentro de los discos terminales 32. La aplicación de un segundo campo magnético en la dirección x o y desplaza la pared de dominio TW hacia uno de los discos terminales 32, en donde es eliminado en la estructura de espín de vórtice, dando como resultado la segunda configuración ilustrada en la Figura 2b.

La Figura 3 muestra un ejemplo del método de inicialización del dispositivo, según el cual la pared de dominio transversal "cabeza-cabeza" TW es posicionada en el ángulo del área de detección 31, aplicando un campo magnético  $H_0$  (con una intensidad, por ejemplo, de 1000 Oe) a lo largo de bisector de ángulo y posteriormente eliminando dicho campo. Al mismo tiempo, en los discos terminales 32, se implementan las dos estructuras de espín de vórtice VS. Una vez que se ha creado, la pared de dominio TW es estable, y puede desplazarse hasta que es eliminada en uno de las estructuras de espín de vórtice, aplicando un campo magnético a lo largo de la dirección x o y.

La Figura 4 muestra la eliminación de una pared de dominio TW de la esquina, aplicando un campo magnético horizontal (dirección x) H. La pared de dominio TW se puede relocalizar sobre el ángulo, aplicando un campo magnético horizontal en la dirección opuesta, o aplicando de nuevo un campo  $H_0$  a lo largo del bisector del ángulo, tal como se ilustra en la Figura 4.

Para detectar la presencia de una pared de dominio TW en la esquina de la nanoestructura se emplean medidas magnetorresistivas, es decir, la medida de las diferencias de potencial  $V_A$  y  $V_B$  entre los contactos de lectura V2 y V1, respectivamente, en las dos configuraciones de espín ilustradas en la Figura 4 (correspondientes a las de las Figuras 2a y 2b, respectivamente). La magnetorresistencia en la nanoestructuras de acuerdo con la invención se controla mediante el denominado efecto de magnetorresistencia anisotrópica (AMR), y se observa una resistencia máxima (y por tanto una diferencia de potencial máxima entre los contactos de lectura) cuando la magnetización es paralela o anti-paralela al flujo de corriente inyectado. Esto corresponde a una condición en la que no existe pared de dominio entre los dos contactos de lectura V2 y V1, y la magnetización rota continuamente siguiendo la forma de esquina del área de detección 31, dando como resultado la diferencia de potencial  $V_B$  de la Figura 4.

Si entre los contactos de lectura V2 y V1 existe una pared de dominio TW, la magnetización se dirige en parte perpendicularmente al flujo de corriente y por tanto la resistencia es menor, dando como resultado la diferencia de potencial  $V_A < V_B$ , tal como se muestra en la Figura 4.

La elevada predictibilidad del cambio entre las dos configuraciones de espín y la agudeza de la transición entre dichas configuraciones permiten que la nanoestructura sea usada para detectar las nanopartículas magnéticas, como se indica a continuación.

El campo requerido para desplazar la pared de dominio TW del vértice del área de detección 31, que da como

resultado su eliminación en una de las dos estructuras de espín de vórtice VS tiene un valor promedio bien definido, particularmente,  $H_{1x}$  en la Figura 5 para un campo H aplicado horizontalmente. Si una nanopartícula magnetizada N es colocada en la proximidad de la esquina en la que la pared de dominio TW está localizada, la interacción dipolar entre el campo generado por la pared de dominio TW y el momento magnético de la partícula N evita que la pared de dominio TW se mueva a  $H_{1x}$ , de tal modo que para cambiar la magnetización en el segmento horizontal de la nanoestructura 3, se requiere una mayor intensidad de campo  $H_{2x}$ , tal como se muestra en la Figura 5. La intensidad de campo magnético requerida para mover y eliminar la pared de dominio TW, observada midiendo la diferencia de potencial entre los dos contactos de lectura V2 y V1, se puede usar para detectar la proximidad de una nanopartícula magnética N.

En la Figura 6, se muestra el resultado de una simulación del efecto de una nanoesfera magnética comercial MACS™ NPs (diámetro 50 nm, magnetización de saturación  $M_s = 300 \text{ emu/cm}^3$ ), colocada por encima de la pared de dominio TW, con la parte inferior de la misma a una distancia vertical de 60 nm desde la superficie de la nanoestructura de Permalloy. Dicha distancia corresponde al espesor predecible para un biosensor, teniendo en cuenta las capas que cubren la nanoestructura 30, que es la capa protectora aislante, la capa polimérica intermedia y la capa de unión a molécula (por ejemplo, en el caso de las moléculas sonda formadas por cadenas de ADN, se tiene en cuenta la longitud de dichos filamentos). Debido a la proximidad de la nanopartícula N, el desplazamiento de la TW mediante un campo aplicado horizontalmente es retardado en 10 Oe (línea discontinua en la Figura 6) con respecto al caso del ángulo sin nanopartículas (línea sólida en la Figura 6). La Figura 6 también muestra el efecto del diámetro de partícula sobre el campo, que provoca que la estructura TW se mueva: usando una nanopartícula con un diámetro de 100 nm posicionada a una distancia vertical de 60 nm desde la superficie de la nanoestructura, dicho campo se incrementa en 35 Oe (línea discontinua y punteada en la Figura 6).

Se puede obtener una evaluación de la relación señal-ruido, correspondiente a la detección del desplazamiento de la pared de dominio TW desde la esquina, a través de ensayos previos llevados a cabo en el caso de una pared de dominio TW, desplazada entre dos ángulos adyacentes de una nanoestructura de anillo cuadrado de Permalloy [P. Vavassori y col., Appl. Phys. Lett. 91, 093114 (2007)]. Las mediciones fueron llevadas a cabo inyectando una corriente alterna de 15  $\mu\text{A}$  (frecuencia de 473 Hz) en la estructura anular y midiendo la diferencia de potencial entre dos contactos de Au en los extremos de una esquina con un amplificador cerrado (constante de tiempo de 10 ms). Se posicionó una pared de dominio TW en la esquina seleccionada con un campo magnético externo, aplicado a lo largo de los extremos del anillo, es decir siguiendo el mismo procedimiento descrito en relación a la nanoestructura de forma de esquina 3 descrito en la presente memoria. Los inventores han detectado una variación (incremento) en la diferencia de potencial en 1,45  $\mu\text{V}$ , tras la eliminación de la TW del ángulo con un ruido (con y sin la pared de dominio TW) de 60 nV, correspondiente a una relación señal-ruido de 24 (que aumenta hasta aproximadamente 60, incrementando la constante de tiempo del amplificador cerrado, es decir el rango de integración hasta 100 ms). Este valor puede usarse como una buena evaluación de la típica relación señal-ruido, que caracteriza el proceso de detección de nanopartículas mediante el dispositivo descrito en la presente memoria.

Para aplicaciones prácticas, el dispositivo puede operarse como se indica a continuación: en primer lugar se inicializa posicionando una pared de dominio TW en el ángulo, tal como se muestra en la Figura 3 (la posible presencia de la nanopartícula no afecta a dicha etapa); a continuación se aplica un campo  $H_k$  horizontal, de tal modo que  $H_{1x} < H_k < H_{2x}$ ; si la diferencia de potencial entre los dos contactos de lectura V2 y V1 no cambia, una nanopartícula magnetizada está colocada sobre la parte superior de la esquina; por el contrario, si la diferencia de potencial cambia (es decir, aumenta) no hay nanopartículas localizadas sobre el área activa del sensor.

Es importante destacar que el área activa del dispositivo es solamente la porción de ángulo ocupada por la pared de dominio TW, que está en el mismo orden de longitud que el área de detección 31 de la tira, es decir 50 nm x 50 nm en el ejemplo contemplado, y coincide con la porción de la nanoestructura 3 incluida entre los contactos de lectura V2 y V1. Por tanto, para detectar una nanopartícula individual, el área de detección 31 puede adaptarse a las dimensiones de la nanopartícula que va a ser detectada, diseñando, en consecuencia, el espesor de la tira doblada sin tener que reducir la nanoestructura 3 completa.

Otra condición a cumplir para el correcto funcionamiento del dispositivo es que la nanopartícula se coloque próxima al vértice. El concepto efectivo del dispositivo con dos discos terminales 32 produce, cuando el sensor se inicializa en el estado magnético, representado en la Figura 2a, que se genere un campo magnético por la nanoestructura 3, únicamente alrededor de la pared de dominio TW, mientras que en las demás zonas el campo es despreciable (la estructura de espín de vórtice VS no produce un campo considerable). El elevado gradiente de campo, que caracteriza dicho campo de dispersión, garantiza que una partícula desmagnetizada, en las proximidades de la estructura, pueda ser atrapada y dirigida hacia el área de detección 31 (autoenfocaje). La Figura 7b muestra el diagrama de vectores de la fuerza que actúa sobre el plano ubicado a 200 nm de la superficie del sensor sobre una nanopartícula superparamagnética con un diámetro de 50 nm, que se caracteriza por un momento magnético en función del campo externo,  $m(H)$ , tal como se muestra en la gráfica superior de la Figura 7a, que es el valor estimado para la nanopartícula comercial MACS™, tenida en cuenta en el presente estudio. La gráfica inferior de la Figura 7a muestra también el  $m(H)$  de una nanopartícula MACS™ con un diámetro de 100 nm. La fuerza fue computerizada computando el campo magnético, creado en el espacio circundante de la nanoestructura en la configuración magnética de la Figura 2a y aplicando el siguiente vector de expresión:

$$F = \mu_0(m \cdot \nabla)H$$

siendo el momento magnético de la nanopartícula  $m = L(H, T, V, M_s)VM_s h$ , en donde  $V$  y  $M_s$  son el volumen y la magnetización de saturación, respectivamente, de la nanopartícula,  $h$  es un versor paralelo al campo aplicado  $H$ , y  $L(H, T, V, M_s)$  es la función de Langevin, que describe el comportamiento superparamagnético de la nanopartícula.

5 El diagrama de vectores de la Figura 7b muestra claramente que la nanopartícula sería dirigida hacia el ángulo de la nanoestructura, en donde se posiciona una pared de dominio TW.

La Figura 8 muestra los diagramas de curvas de nivel del módulo de la fuerza que actúa sobre una nanoesfera superparamagnética que tiene un diámetro de 50 nm o 100 nm sobre los planos a 200, 100 y 60 nm desde la superficie de la nanoestructura 3, con la pared de dominio TW en el ángulo (columnas central y derecha de la Figura 8) y después de la eliminación de la pared de dominio TW (columna izquierda de la Figura 8). Los diagramas de curvas de nivel de la columna central de la Figura 8 muestran que el módulo de la fuerza que actúa sobre la nanopartícula con un diámetro de 50 nm a una distancia de 200 nm de la nanoestructura 3 está en el rango de 0,5 a 1 pN sobre un área con un diámetro de aproximadamente 300 nm, lo que garantiza acciones efectivas de atrapamiento y enfoque sobre una nanopartícula (véase la explicación más adelante). El módulo de la fuerza aumenta en un factor de aproximadamente 10 si la distancia entre la nanopartícula y la superficie de la nanoestructura se reduce a 60 nm. Los gráficos de contorno de intensidad de la columna izquierda de la Figura 8 muestran que cuando la pared de dominio TW es retirada de la esquina y eliminada en uno de las estructuras de espín de vórtice VS, la fuerza que actúa sobre la nanopartícula en el ángulo es despreciable.

Por lo tanto, al contrario que otros dispositivos, no se requiere ninguna acción externa (tal como el posicionamiento de la nanopartícula en la posición correcta, usando un campo externo que también induce un momento sobre la nanopartícula), con el objetivo de posicionar y magnetizar la partícula para una detección óptima. La fuerza que actúa sobre una nanopartícula puede aumentarse o disminuirse, aumentando o disminuyendo el espesor de la nanoestructura, respectivamente. Dicho aspecto es crítico para fijar el enfoque magnético y para evitar que las partículas se agrupen, lo que puede producirse en el caso de campos con un gradiente demasiado elevado.

Dicho problema de enfoque magnético con respecto al enfoque magnético convencional obtenido con líneas de corriente consiste en que es permanente y que la fuerza magnética podría dificultar el enlace químico entre las moléculas de unión y las moléculas diana, comprometiendo la especificidad del ensayo biológico. Una evaluación aproximada de la energía del enlace magnético de una nanopartícula posicionada por encima de la pared de dominio TW produce  $10^{-18}$  J, comparado con el valor comparable de la energía de enlace entre las dos porciones de hélice de una reacción típica de hibridación ADN-ADN, teniendo en cuenta un oligo de 23 bases, que es de  $8 \cdot 10^{-19}$  J. Estos valores indican claramente que un enfoque permanente no sería aceptable. Sin embargo, en el concepto de acuerdo con la invención, la pared de dominio TW puede eliminarse en los discos terminales simplemente aplicando un campo externo, obteniendo de este modo una condición en la que las fuerzas magnéticas son despreciables, tal como se ha discutido anteriormente en referencia a los diagramas de la columna izquierda de la Figura 8. En otras palabras, el concepto de acuerdo a la invención permite activar y desactivar el enfoque magnético, a través de campos externos, sin líneas de corriente adicionales, lo que incrementaría la complejidad del dispositivo.

El conjunto de biosensores podría entonces operar como se indica a continuación:

(i) una pared de dominio TW se coloca sobre el área de detección 31 de cada nanoestructura 3, y la muestra biológica se extiende sobre el área ocupada por los sensores, de tal modo que permite que la nanopartícula magnética se auto-enfoque sobre el área de detección 31 de cada nanoestructura 3;

(ii) las paredes de dominio TW son eliminadas en los respectivos discos terminales 32, retirando así las fuerzas magnéticas;

(iii) las moléculas diana y las nanopartículas ligadas químicamente de forma no selectiva son eliminadas de los sitios de detección DS mediante un proceso de lavado convencional;

(iv) las paredes de dominio TW se colocan de nuevo en las áreas de detección 31, a través de un campo magnético externo, y se detecta la presencia de una molécula diana ligada específicamente, debido a la medida del campo de transición crítica, desde dicha primera configuración de espín TW hasta dicha segunda configuración de espín, en donde la pared de dominio TW es eliminada en una de las estructuras de vórtice VS, a través de la medida del campo de transición crítica, determinado, a su vez, de acuerdo a una medición de la diferencia de potencial en los extremos de los contactos V1 y V2.

La Figura 9 muestra simulaciones micromagnéticas, que ilustran cómo se puede repetir la estructura de esquina en cadenas, sin alterar la operación de cada unidad. En la práctica, se fabrica una cadena 300 haciendo que cada nanoestructura individual 3 comparta un disco terminal 32 apropiado con otra nanoestructura 3 adyacente a la misma. Dicha configuración es particularmente adecuada para fabricar un conjunto, disponiendo una pluralidad de cadenas 300 de nanoestructuras de lado-a-lado. Debido a la excelente relación señal-ruido, que caracteriza el proceso de detección de nanopartículas (igual o superior a 24, tal como se ha descrito anteriormente), y para reducir el número de contactos requeridos para contabilizar una pluralidad de nanopartículas, la diferencia de potencial se puede leer en una pluralidad de áreas de detección 31, ligadas mediante contactos de lectura, de tal modo que se

forme un conjunto de resistencias en paralelo (Figura 10a) o en serie (Figura 10b). En particular, en la Figura 10a, se ilustra parte de un conjunto, en donde entre las cadenas lado-a-lado 300, se extienden pares de tiras de contacto de lectura 310, 320 (correspondientes a los contactos de lectura V1 y V2, descritos previamente), en donde cada área de detección 31 de cada cadena de nanoestructuras 300 está conectada en paralelo con un área de detección 31 de las otras cadenas de nanoestructuras 300 correspondientes para la posición, a través de un par respectivo de tiras de contacto de lectura 310, 320. Las cadenas 300 se disponen en paralelo a través de contactos de suministro  $I_{in}$  y GND. Por otro lado, en la Figura 10b, se ilustra parte de un conjunto, en donde se conecta un par de tiras de contacto de lectura 410, 420 (correspondientes a los contactos de lectura V1 y V2, descritos previamente), a los extremos opuestos de cada cadena 300 sobre todas las cadenas 300. Las cadenas 300 se suministran independientemente mediante los respectivos contactos de inyección  $I_{in}$  (con el índice  $i = 1, 2, 3, 4, \dots$ ), con un contacto de salida de corriente común GND. En cualquier caso, para la lectura sobre múltiples áreas de detección 31, cada par de tiras de contacto de lectura 310, 320 (en la configuración de la Figura 10a) o cada contacto de inyección de corriente  $I_{in}$  debe habilitarse secuencialmente con un multiplexer. A fin de asegurar una lectura independiente de las cadenas sencillas, la impedancia de las tiras de lectura 410 y 420 debería ser significativamente mayor que la de las cadenas. La relación señal-ruido computada es tal que se puede predecir que tiene hasta 5 áreas de detección 31, conectadas en paralelo o en serie entre dos contactos de lectura.

Con el objetivo de obtener un elevada sensibilidad biológica, el área activa del sensor (que coincide con el área de detección 31) y el área funcionalizada (es decir, el área ocupada por las moléculas de unión dispuestas por encima de los sensores) deberían coincidir. La funcionalización selectiva del área de detección individual 31, sin embargo, es extremadamente difícil y no adecuada para una producción a gran escala de los dispositivos; de hecho, es más razonable asumir un área de funcionalización del orden de  $200 \mu\text{m}^2$ , en donde se pueden agrupar varias unidades del conjunto, tal como las representadas en las Figuras 10a y 10b. Sin embargo, esto no da como resultado una pérdida significativa de la sensibilidad biológica, ya que el auto-enfoque tiende a concentrar las nanopartículas magnéticas en las áreas de detección 31. Las fuerzas típicas obtenidas por la línea de corriente usada para el enfoque magnético de las nanopartículas sobre el área activa de los dispositivos, están en el orden de fracciones de pN, tal como se muestra en el artículo de Ferreira y col. [H.A. Ferreira y col., Appl. Phys. Lett. 87, 013901 (2005)]. De acuerdo a esto, se puede asumir que el área de captura en el caso de las nanopartículas con un diámetro de 50 nm es un círculo, en donde la fuerza de la nanopartícula es superior a 0,5 pN a una altura de 200 nm (la distancia máxima tenida en cuenta en las simulaciones de la Figura 8). Las áreas de captura computadas de este modo se presentan como áreas circulares grises en las Figuras 10a y 10b. Entonces se observa que más del 75% del área funcionalizada corresponde a la propia área activa de los sensores. Para nanopartículas más grandes (por ejemplo con un diámetro de 100 nm) o para nanopartículas con un mayor valor de magnetización de saturación, la situación podría ser incluso más favorable y el área de captura podría cubrir completamente el área de funcionalización. Es probable que la fuerza que actúa sobre la nanopartícula sea suficientemente elevada para garantizar que esta última sería atraída al área de detección 31, en donde se puede detectar su presencia, desde cualquier posición inicial sobre el área funcionalizada, pero este resultado necesita ser confirmado experimentalmente. Además, si se requiere, la intensidad de la fuerza magnética y la extensión del área de captura se pueden ajustar de muchos modos diferentes: (i) cambiando el espesor y/o la anchura de la tira de nanoestructura 3, o (ii) modificando el ángulo entre los dos segmentos que definen la esquina. La reducción del espesor produce, por ejemplo, un aumento de la variación del campo de transición, provocado por la vecindad de la nanopartícula magnética (señal magnética), incluso aunque dicha ventaja viene acompañada de un descenso de las fuerzas magnéticas de enfoque.

El rango dinámico de los conjuntos, que emplean las unidades de las Figuras 10a y 10b, puede determinarse fácilmente. La concentración máxima de nanopartículas detectables está en el orden de  $5 \cdot 10^8$  nanopartículas/cm<sup>2</sup>, correspondiente a una nanopartícula en cada área de detección 31. En su lugar, si se usan 70 unidades de conjunto, dispuestas en un área de aproximadamente  $200 \mu\text{m}^2$ , funcionalizadas con la misma molécula de unión, se obtiene un conjunto que es capaz de detectar solo una molécula sobre él, es decir una concentración en el orden de  $5 \cdot 10^5$  nanopartículas/cm<sup>2</sup>.

**REIVINDICACIONES**

1.- Un sensor de detección de presencia de nanopartícula magnética, comprendiendo dicho sensor:

un soporte (1) sobre el cual se dispone el sensor;

una pluralidad de contactos no magnéticos (lin, GND, V1, V2) dispuestos sobre el soporte y conectados eléctricamente y conductivamente al sensor;

el medio de medición de la magnetorresistencia sobre el sensor conectado a dicha pluralidad de contactos no magnéticos,

que se caracteriza en que:

- el sensor incluye una estructura ferromagnética plana (3), que comprende un área de detección (31), conformada como una tira doblada para formar una esquina,

- el sensor está estructurado para aplicar un campo magnético para provocar que el área de detección asuma selectivamente, como una respuesta al campo magnético aplicado:

una primera configuración de espín que comprende una pared de dominio (TW) "cabeza-a-cabeza", y

una segunda configuración de espín, en la que dicha pared de dominio (TW) está ausente, en donde dicha transición entre la primera configuración y la segunda configuración es proporcionada por el campo magnético aplicado, que tiene una componente que es paralela a uno de los lados del ángulo del área de detección con una intensidad superior al umbral de transición predecible ( $H_{1,x}$ ); estando dicho umbral de transición, detectable mediante magnetorresistencia, afectado por la proximidad de una nanopartícula magnética (N) al área de detección.

- dicho medio de medición está estructurado para proporcionar una medida de dicho umbral de transición a través de medidas de la magnetorresistencia del área de detección en dichas primera y segunda configuraciones de espín asumidas tras la aplicación de dicho campo magnético.

2.- El sensor de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el sensor está estructurado de tal modo que dicha transición entre la primera y la segunda configuraciones se debe a un efecto de magnetorresistencia anisotrópica.

3.- El sensor de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la nanoestructura (3) consiste en el área de detección (31), sobre cuyos extremos opuestos se disponen discos terminales relativos (32).

4.- El sensor de acuerdo con la reivindicación 3, en el que dichos contactos comprenden un par de contactos de inyección (lin, GND) dispuestos desde los extremos opuestos del área de detección (31), que son adaptados para permitir la inyección de una corriente eléctrica a través del área de detección (31), y un par de contactos de lectura (V1, V2) dispuestos desde los extremos opuestos del área de detección (31), que están adaptados para permitir una medición de la diferencia de potencial ( $V_A$ ,  $V_B$ ) entre los extremos del área de detección (31).

5.- El sensor de acuerdo con al menos una de las reivindicaciones precedentes, en donde en dicha primera configuración de espín la pared de dominio (TW) "cabeza-a-cabeza" es así para atrapar y dirigir una nanopartícula magnética hacia el área de detección (31).

6.- El sensor de acuerdo con la menos una de las reivindicaciones precedentes, en el que el sensor se dispone de tal modo que permita realizar la detección de una molécula individual y/o pueda emplearse en sistemas para la síntesis y/o análisis a nivel de moléculas individuales.

7.- Un conjunto de sensores para detectar moléculas diana, a las cuales se unen nanopartículas magnéticas (N) como marcadores, comprendiendo dicho conjunto de sensores un soporte (I) provisto de:

una pluralidad de sitios de detección (DS), a los cuales se asocian las respectivas moléculas de unión, adaptadas para unirse selectivamente a dichas moléculas diana, y los respectivos sensores, estando adaptado cada uno de ellos a detectar la presencia de una nanopartícula magnética (N) en el respectivo sitio de detección (DS),

que se caracteriza en que cada sensor se lleva a la práctica de acuerdo con al menos una de las anteriores reivindicaciones.

8.- El conjunto de acuerdo con la reivindicación 7, en el que dichos sensores se disponen para formar una pluralidad de cadenas de sensor lado a lado (300), en donde cada cadena de sensores está hecha de una pluralidad de nanoestructuras (3) de una sola pieza, estando cada nanoestructura de una pieza constituida por el área de detección (31) conformada como una tira doblada para formar una esquina, en los extremos de la cual se colocan los respectivos discos terminales (32), estando dichas nanoestructuras de una pieza conectadas de tal modo que

cada nanoestructura de una pieza comparte un disco terminal (32) con la siguiente.

5 **9.-** El conjunto de acuerdo con la reivindicación 8, en donde dichos contactos comprenden una pluralidad de contactos de inyección ( $I_{in}$ , GND;  $I_{iu}$ , GND), adaptados para permitir la inyección de una corriente eléctrica a través del área de detección (31) de cada nanoestructura de una pieza, y una pluralidad de contactos de lectura (310, 320; 410, 420), adaptados para permitir una medición de la diferencia de potencial entre los extremos del área de detección (31) de cada nanoestructura unitaria.

10 **10.-** El conjunto de acuerdo con la reivindicación 9, en el que dichos contactos de lectura (310, 320) están dispuestos de tal modo que las áreas de detección (31) de las nanoestructuras de una pieza correspondientes, en posición sobre las diferentes cadenas de sensores (300), están conectadas en paralelo, estando conectadas dichas cadenas de sensores en paralelo a un par de dichos contactos de inyección ( $I_{in}$ , GND) para permitir la inyección simultánea de las respectivas corrientes eléctricas a través de las cadenas de sensores (300).

15 **11.-** El conjunto de acuerdo con la reivindicación 9, en el que dichos contactos de lectura (410, 420) son dos y están conectados simultáneamente a las diferentes cadenas de sensores (300), y están dispuestas de tal modo que las áreas de detección (31) de cada cadena de sensores están conectadas en serie, estando conectada cada cadena de sensores a un respectivo contacto ( $I_{iu}$ ) de dichos contactos de inyección para permitir la inyección independiente de una respectiva corriente eléctrica a través de cada cadena de sensores.

**12.-** Un método para detectar moléculas diana, a las cuales se ligan nanopartículas magnéticas (N) como marcadores, comprendiendo el método las siguientes etapas:

proporcionar un conjunto de sensores de acuerdo con una de las reivindicaciones 7 a 11,

20 aplicar un primer campo magnético, con el objetivo de obtener dicha primera configuración de espín en cada nanoestructura (3), y posteriormente retirar dicho primer campo magnético;

disponer una muestra biológica que contenga dichas moléculas diana sobre los sitios de detección (DS);

25 aplicar un segundo campo magnético con el objetivo de cambiar dicha primera configuración de espín a dicha segunda configuración de espín en cada nanoestructura (3), y posteriormente retirar dicho segundo campo magnético;

retirar las moléculas diana no ligadas químicamente a las moléculas de unión, de los sitios de detección (DS);

aplicar un tercer campo magnético con el objetivo de obtener, de nuevo, dicha primera configuración de espín en cada nanoestructura (3), y posteriormente retirar dicho tercer campo magnético; y

30 llevar a cabo mediciones del campo de transición crítico entre dicha primera configuración de espín y dicha segunda configuración de espín a través de determinaciones de magnetorresistencia sobre los sensores, mediante dicha pluralidad de contactos.

FIG.1

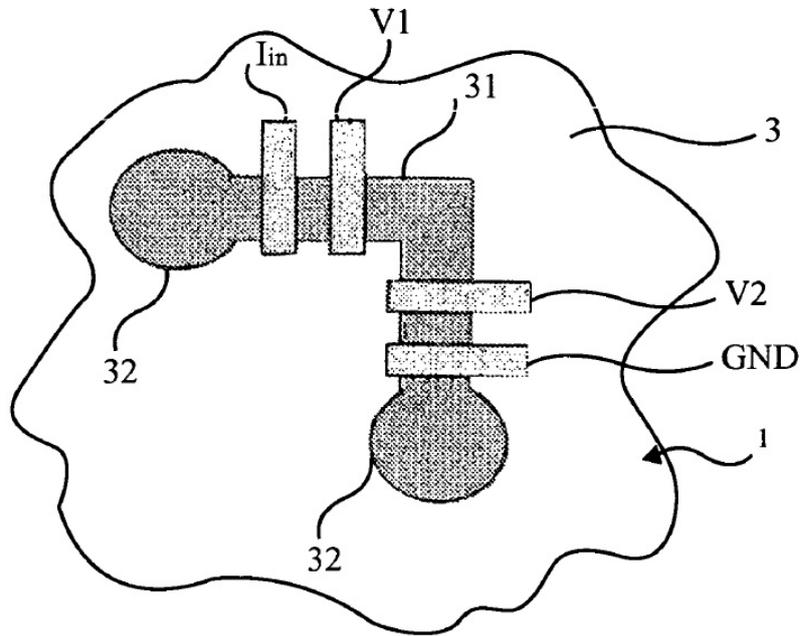


FIG.2a

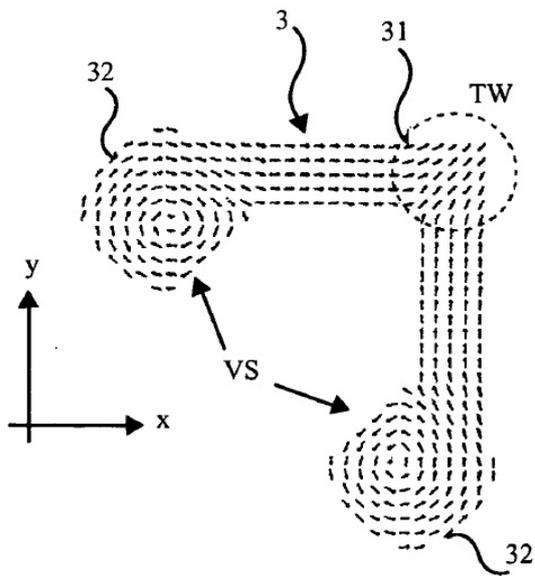


FIG.2b

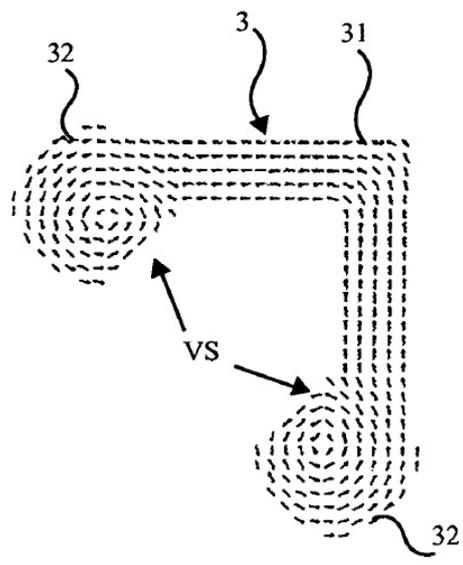


FIG.3

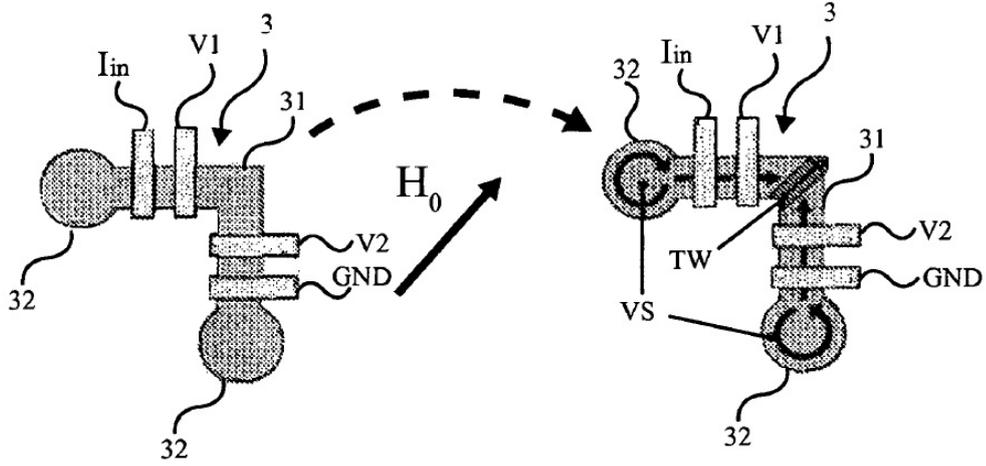


FIG.4

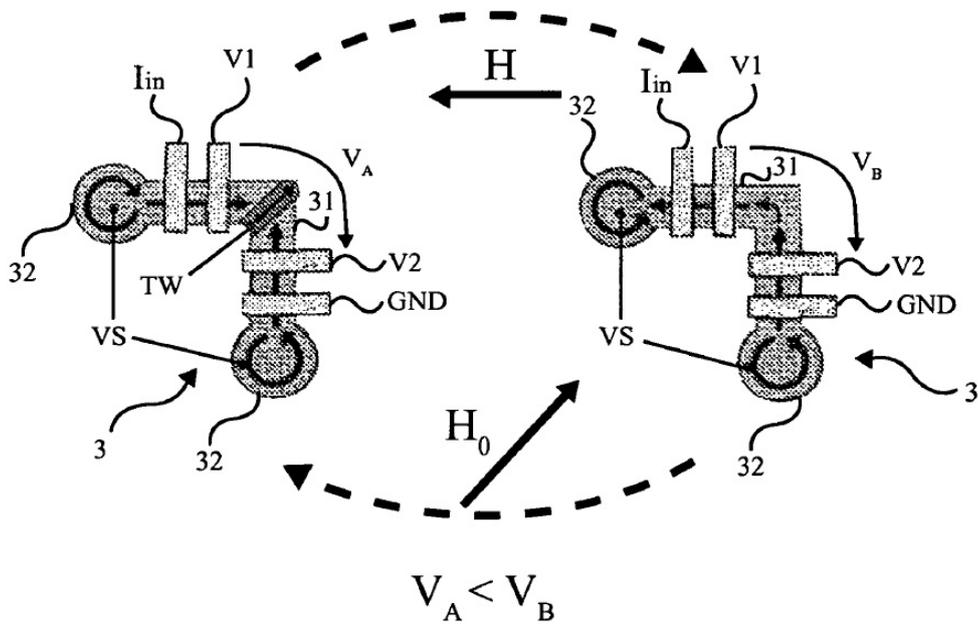




FIG.7

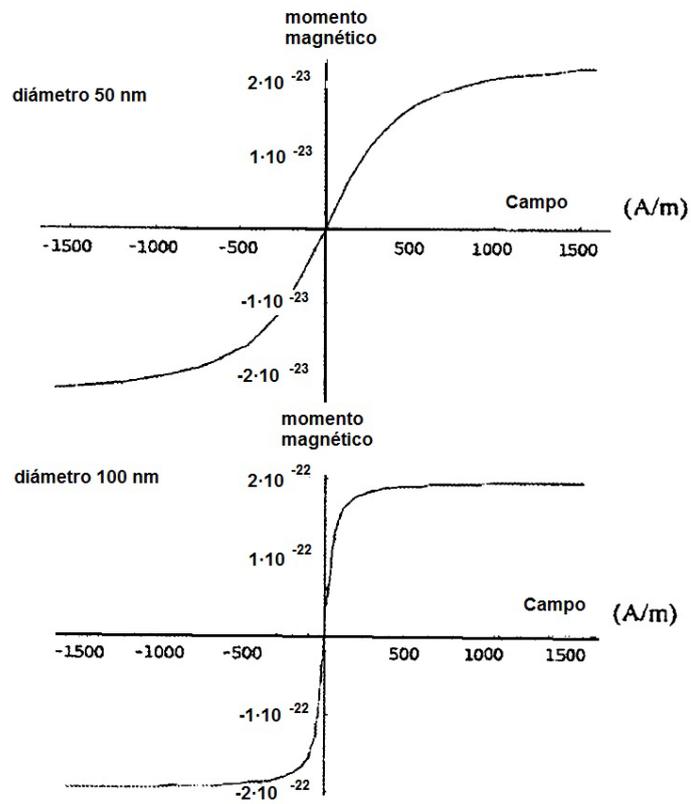


FIG.7b

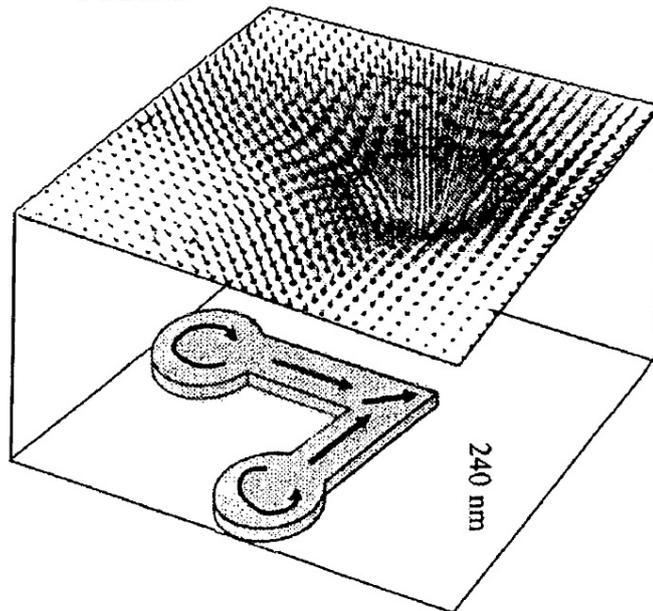


FIG.8

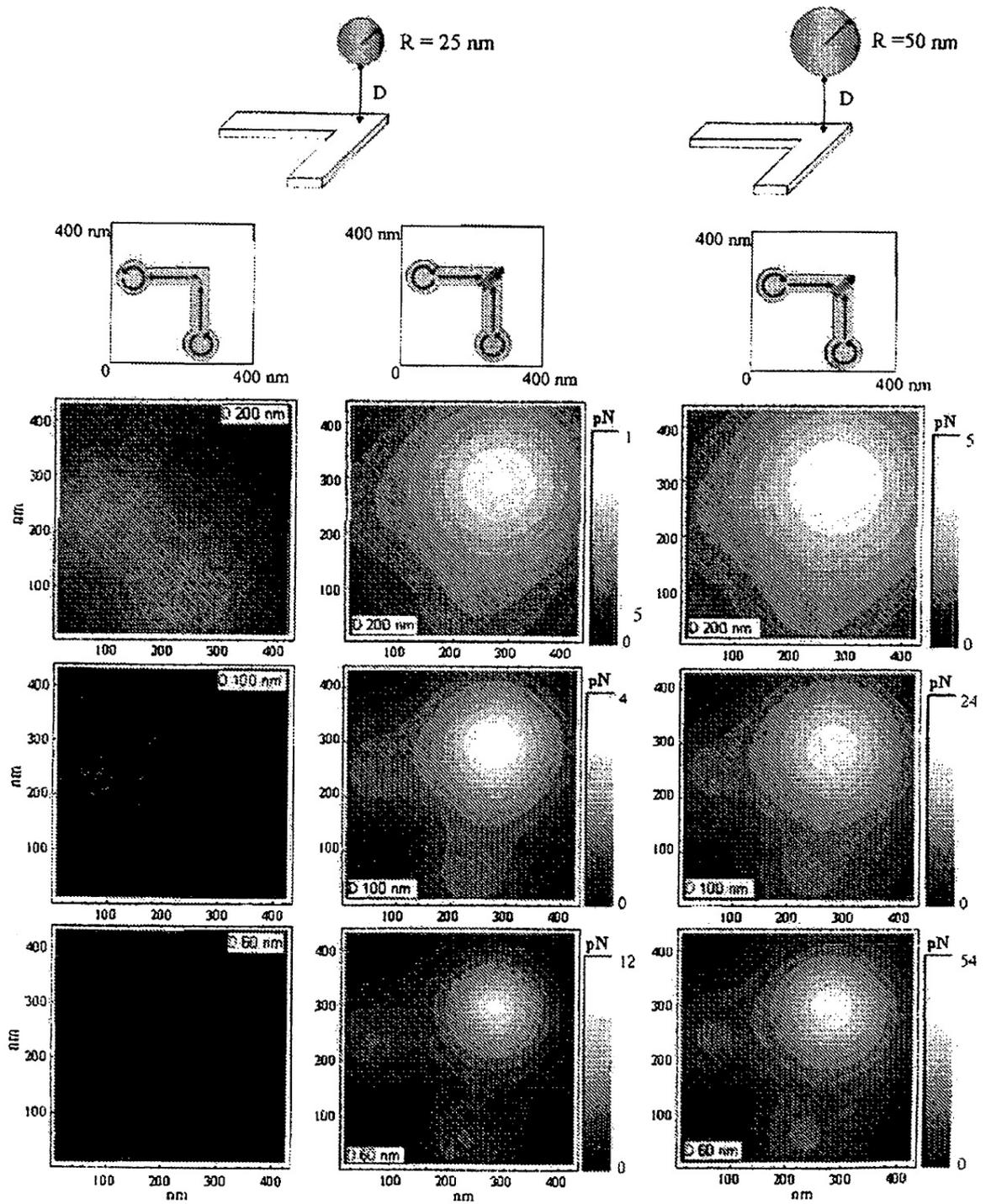


FIG.9

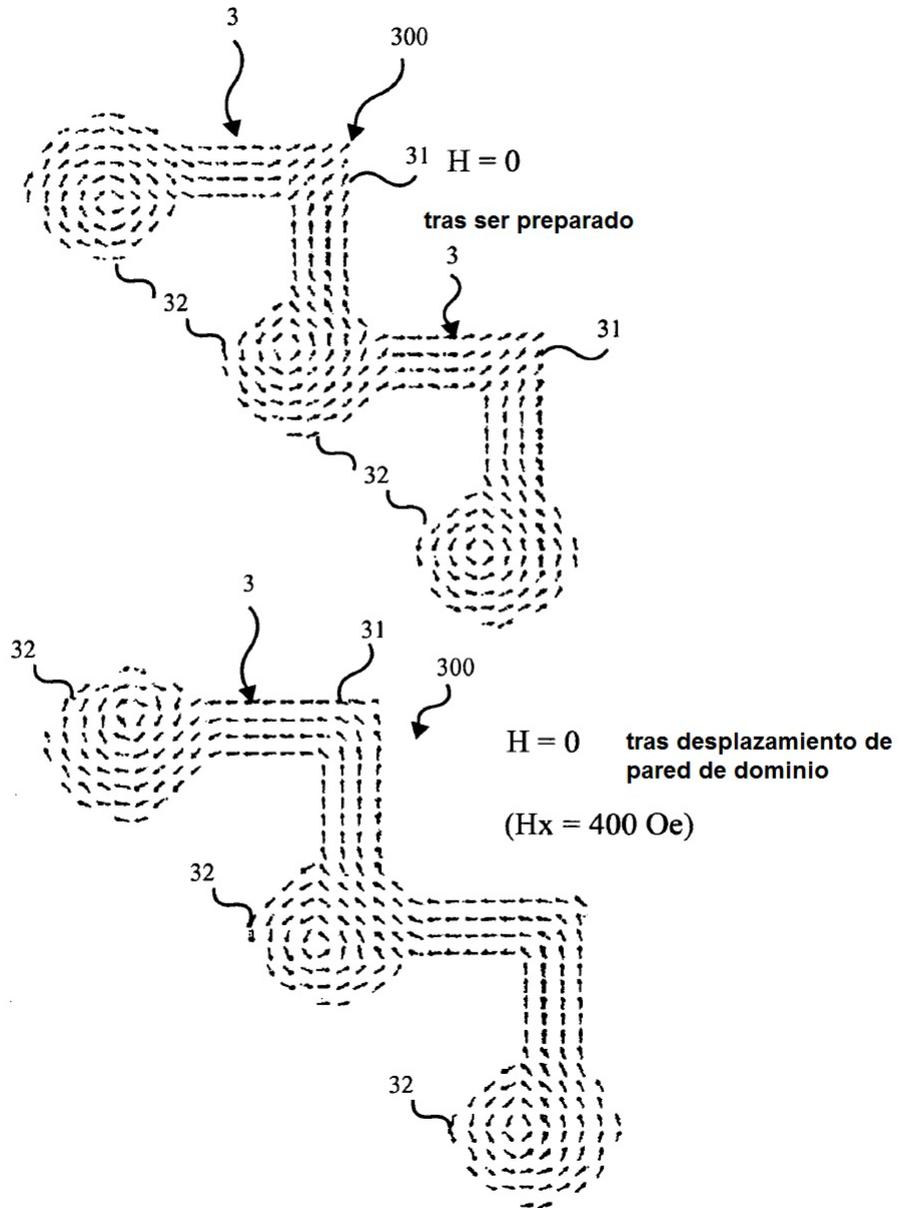


FIG.10a

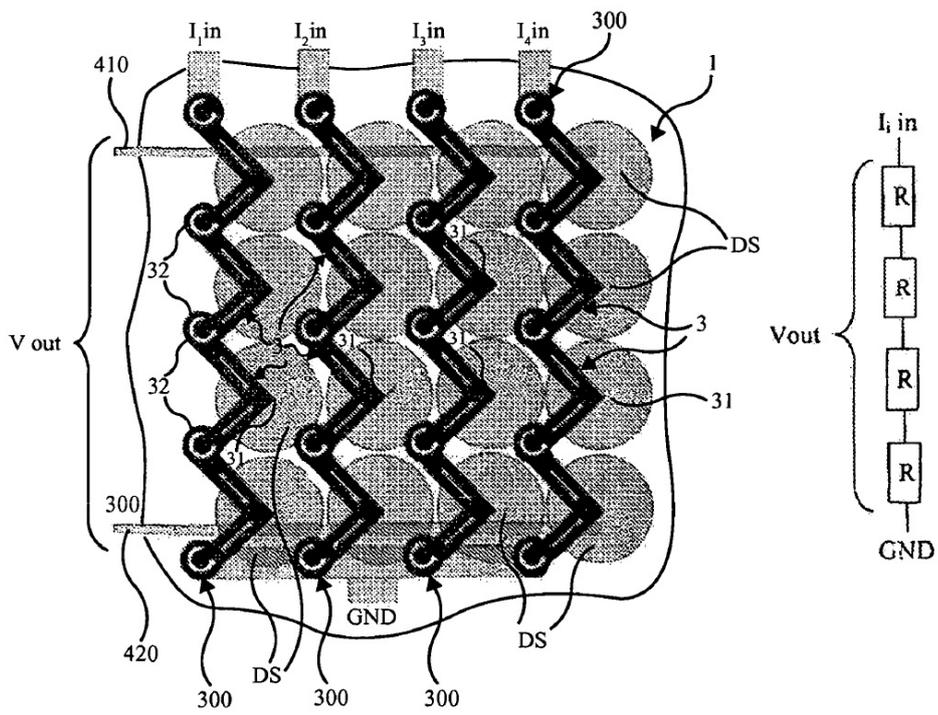
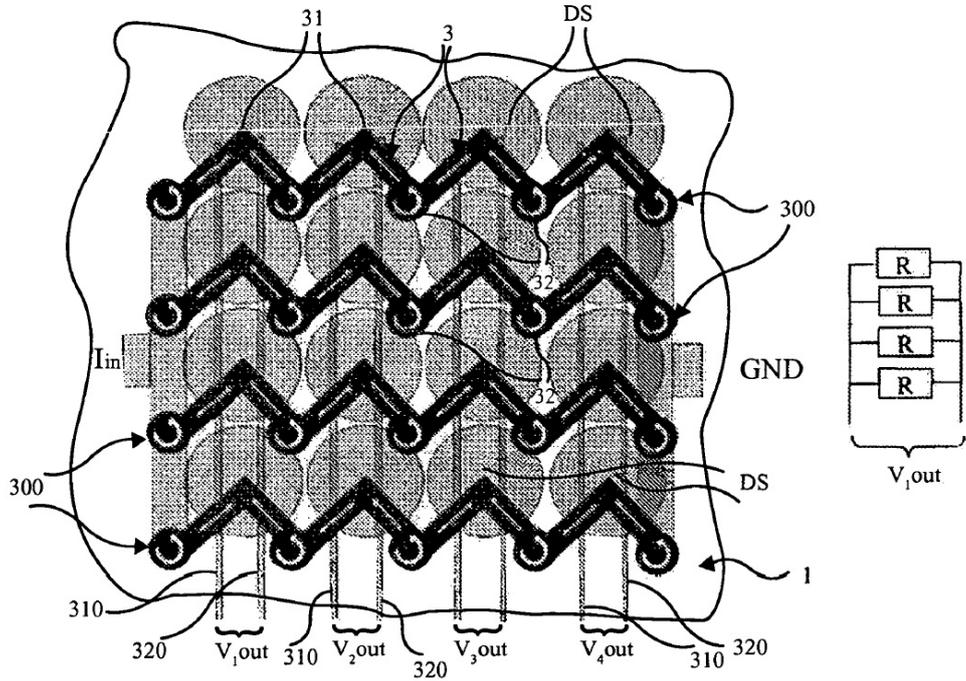


FIG.10b