

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 396 566**

51 Int. Cl.:

**G01N 21/19** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.11.2007 E 07824622 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.10.2012 EP 2082215**

54 Título: **Sistema de detección molecular**

30 Prioridad:

**17.11.2006 GB 0622956**

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

**22.02.2013**

73 Titular/es:

**THE UNIVERSITY OF BIRMINGHAM (100.0%)  
Edgbaston Birmingham  
West Midlands B15 2TT, GB**

72 Inventor/es:

**DAFFORN, TIMOTHY RICHARD y  
HICKS, MATTHEW**

74 Agente/Representante:

**BALLESTER CAÑIZARES, Rosalía**

**ES 2 396 566 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).

**SISTEMA DE DETECCIÓN MOLECULAR****DESCRIPCIÓN****Campo de la invención**

5 **[0001]** La presente invención hace referencia a un sistema de detección molecular. En particular pero no de forma exclusiva, la invención muestra un sensor molecular que utiliza un fenómeno óptico conocido como dicroísmo para identificar la presencia de determinadas moléculas en una sustancia.

**10 Descripción de los antecedentes**

**[0002]** Debido a su naturaleza, los organismos contienen una gran cantidad de moléculas y ensamblajes moleculares complejos. Algunas de las moléculas y de los ensamblajes moleculares más complejos son de gran tamaño y poseen altas relaciones de aspecto (por ejemplo, un eje significativamente más largo que los otros). Al respecto  
15 se utiliza un sistema óptico para detectar con precisión dichas moléculas con alta relación de aspecto. Dicho aparato actúa en función de la interacción de estas moléculas con la luz polarizada (por ejemplo, luz con un campo eléctrico establecido en una única dirección).

**[0003]** El fenómeno empleado por el sistema arriba mencionado se conoce con el  
20 nombre de dicroísmo. La luz incidente puede ser polarizada linealmente, dando lugar a un dicroísmo lineal (LD), o polarizada circularmente, dando lugar a un dicroísmo circular (CD). El LD es la propiedad que poseen algunas estructuras moleculares por medio de la cual la luz polarizada linealmente es absorbida diferencialmente a lo largo de dos ejes ortogonales. El CD está relacionado con la diferencia en la absorción de la luz  
25 polarizada circularmente hacia izquierda o derecha. Una molécula que es capaz de una absorción selectiva de luz recibe el nombre de cromóforo. Las moléculas dicroicas, por ejemplo aquellas que muestran propiedades dicroicas, constituyen un tipo determinado de cromóforo. Entre los materiales dicroicos se encuentran, por ejemplo, algunos cristales naturales, polímeros estirados y otras moléculas no isotrópicas. Las  
30 biomoléculas contienen una amplia gama de cromóforos (incluyendo cadenas laterales aromáticas, nucleótidos y esqueletos peptídicos).

**[0004]** Para que sea posible observar un efecto dicroico, es necesario que los cromóforos estén alineados o, al menos, parcialmente alineados, con respecto a los  
rayos incidentes de luz polarizada. Dicha condición permite que sea viable la obtención  
35 de información sólo de las moléculas alineadas aún cuando estén entre moléculas desalineadas. No obstante, dicha condición ha limitado, hasta la fecha, la aplicación de la técnica arriba mencionada especialmente al estudio de moléculas grandes con altas relaciones de aspecto, ya que éstas son de fácil alineación. Se considera que una

molécula posee una alta relación de aspecto si uno de sus ejes es considerablemente más largo que el otro. Algunas de las posibles moléculas tendrán forma de varilla, disco o cruz. Dependiendo de la rigidez de la molécula, una relación de aspecto de 100:1 puede ser suficiente para facilitar la alineación, pero es preferible una relación de aspecto superior a 1000:1. Algunos ejemplos de grupos de interés que se han alineado de manera satisfactoria contienen biomoléculas lineales en forma de ADN, proteínas fibrosas y membranas (incluyendo las proteínas membranas) (Marrington R., Small E., Rodger A., Dafforn T.R., Addinall S.G., "FtsZ fiber bundling is triggered by a conformational change in bound GTP", *J Biol Chem*, 2004;279(47):48821-48829; Dafforn T.R., Rajendra J., Halsall D.J., Serpell L.C., Rodger A., "Protein fiber linear dichroism for structure determination and kinetics in a low-volume, low-wavelength couette flow cell", *Biophys J*, 2004;86(1 Pt 1):404-410; Dafforn T.R., Rodger A., "Linear dichroism of biomolecules: which way is up?", *Curr Opin Struct Biol*, 2004;14(5):541-546; Halsall D.J., Rodger A., Dafforn T.R., "Linear dichroism for the detection of single base pair mutations", *Chem Commun (Camb)*, 2001 (23):2410-2411).

**[0005]** Chen R. J. y otros en "Noncovalent functionalization of carbon nanotubes for highly specific electronic biosensors", *PNAS*, 100(9), 29 de abril de 2003, 4984-4989 describen los nanotubos (con diámetros entre 1-3 nm y una longitud de 1-10  $\mu\text{m}$ ) con receptores adheridos. De manera electrónica se detecta la unión específica entre el receptor y una molécula objetivo.

**[0006]** En la patente WO2004/010117 se muestra que las técnicas de dicroísmo lineal pueden aplicarse a materiales poliméricos como el ADN, las proteínas y los polisacáridos que pueden orientarse por medio de fuerzas de cizallamiento hacia especies largas como los nanotubos de carbono (*buckytubos*).

**[0007]** Un método particularmente conveniente para alinear este tipo de moléculas consiste en crear una solución en la que se incluyan dichas moléculas y después hacer fluir la solución. Debido a la naturaleza de alargamiento de las moléculas, éstas se alinean gracias a las fuerzas de cizallamiento generadas por dicho flujo, haciendo que la muestra sea propicia para mostrar el efecto de dicroísmo lineal.

**[0008]** En un conocido sistema, una vez que las moléculas de interés se han alineado, se dirige la luz polarizada linealmente a través de la solución con una dirección lo suficientemente perpendicular a los ejes de dichas moléculas alineadas. La absorción de la luz se produce dentro de una molécula porque, a una determinada longitud de onda, el campo eléctrico de radiación conduce a los electrones de la molécula en una dirección concreta. Cuando varias moléculas se alinean de manera similar, los electrones en cada una de ellas se caracterizan por elegir la misma dirección de desplazamiento en red. El LD mide la diferencia en la absorción de la luz incidente entre dos polarizaciones ortogonales. Variar la longitud de onda de la luz incidente y detectar

la luz emergente de la muestra permiten obtener un espectro que ilustra la absorción de dicha muestra con respecto a la longitud de onda.

**[0009]** Un espectro de LD de una molécula proporciona información sobre los cromóforos que están presentes incluyendo la orientación de los mismos (y de ahí la configuración molecular) y su orientación con respecto a los ejes de polarización. Esta información es importante para comprender la estructura de la molécula. Se debe tener en cuenta que el LD mide una propiedad intensiva de la muestra. La fuerza de absorción puede utilizarse para cuantificar el número de moléculas objetivo que están presente en la muestra. Además, debido a que el LD es extremadamente sensible a los cambios en la alineación, se podrá detectar una anomalía en la estructura de una molécula. Por ejemplo, el LD es capaz de detectar una deformación causada por un solo enlace de hidrógeno con apareamiento erróneo en un fragmento con 1300 pb (par de base) de ADN.

**[0010]** Además, el LD es extremadamente sensible a la formación de un complejo ya que la unión de una molécula alineada a una segunda molécula da lugar a los siguientes efectos medibles:

1) La forma del grupo alineado se verá alterada y como consecuencia la alineación del mismo, lo que lleva a un cambio en el espectro de LD observado.

2) La segunda molécula se verá alineada también gracias a su unión a la molécula que ya lo estaba. Esto dará lugar a la creación de una señal de LD para los cromóforos no alienados anteriormente de la segunda molécula. Así, se podrá obtener información de la estructura del complejo.

Los dos efectos arriba mencionados tienen como resultado fenómenos medibles que pueden utilizarse para detectar la formación de complejos. No sólo se puede mostrar la información estructural de la naturaleza del complejo, sino que además se puede determinar la afinidad de interacción.

**[0011]** No obstante, la mayoría de las moléculas no tiene una alta relación de aspecto y en su lugar poseen formas más parecidas a esferas, con relaciones de aspecto de menos de 5:1. Para poder alinear dichas moléculas, se ha de unir la molécula objetivo a un receptor que por sí mismo presente una alta relación de aspecto. Este método de alineación se ha conseguido y aplicado a los estudios de ligandos (por ejemplo, el cisplatino) que se unen a receptores alineables por naturaleza (por ejemplo, el ADN). No obstante, el presente método también quedaría limitado en esta aplicación ya que sólo podría estudiar aquellas moléculas que están unidas a receptores alineables por naturaleza.

**[0012]** Es, por tanto, objetivo de la presente invención extender la aplicación del análisis dicróico.

### **Resumen de la invención**

**[0013]** De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un sensor molecular que comprende un canal de flujo configurado para hacer fluir una solución que contiene potencialmente un molécula objetivo, una fuente de luz polarizada, un detector preparado para recibir la luz de la fuente una vez que ésta haya  
5 atravesado el canal de flujo, y un elemento del sensor que comprende un núcleo estructural con una alta relación de aspecto, en uso, dispuesto en el canal de flujo, y una porción receptora, para la molécula objetivo, unida a dicho núcleo estructural.

**[0014]** En esta especificación, cuando se habla de “alta relación de aspecto”, se hace referencia a una relación de aspecto de al menos 75:1 aunque se prefiere de al menos  
10 100:1.

**[0015]** Así, el primer aspecto de la presente invención proporciona un sensor molecular que puede utilizarse para detectar si una molécula objetivo está presente en la solución. El uso de un núcleo estructural alineable como un sustrato para la unión de una porción receptora tiene como ventaja que ni la porción receptora por sí misma ni la molécula  
15 objetivo necesitan de propiedades de alineación inherentes. De manera similar, el núcleo estructural por sí mismo no necesita ser cromóforo y, gracias a las capacidades de alineación del sensor, se pueden evaluar las propiedades dicróicas de las moléculas objetivo. Así, además de ser capaces de identificar las moléculas alineadas a través de los espectros dicróicos resultantes, el sensor puede utilizarse para cuantificar las  
20 moléculas alineadas y detectar la presencia de anomalías moleculares como apareamientos erróneos. Por medio de este sensor, también se pueden estudiar las propiedades de unión de la porción receptora y la molécula objetivo. La naturaleza inherente de las moléculas dicróicas muestra la extremada sensibilidad del sensor.

**[0016]** Preferentemente la molécula objetivo es dicróica. Alternativa o adicionalmente, la  
25 porción receptora también puede ser dicróica. Cuando la molécula objetivo no es dicróica, es esencial que la señal dicróica de la porción receptora muestre cambios en la unión con la molécula objetivo. Preferentemente el núcleo estructural no es dicróico.

**[0017]** Preferentemente el sensor comprende varios núcleos estructurales.

**[0018]** Preferentemente el núcleo o los núcleos estructurales poseen porciones  
30 receptoras a ellos unidas. Preferentemente cada porción receptora está preparada para unirse a la misma molécula objetivo. O bien, dichas porciones receptoras pueden estar dispuestas para unirse a diferentes moléculas objetivo.

**[0019]** Preferentemente el núcleo o los núcleos estructurales están anclados en el canal de flujo de manera que, en su uso, dichos núcleos son capaces de alinearse en un flujo  
35 aunque su localización venga fijada dentro del canal del mismo.

**[0020]** Pese a hacer referencia al núcleo estructural como entidad única, se entiende que dicha estructura viene construida por dos o más componentes que desempeñan diferentes funciones (por ejemplo, anclaje en el canal del flujo, unión al receptor, u otras funciones físicas o químicas).

**[0021]** Preferentemente, el canal de flujo viene proporcionado en una celda de flujo, como una celda de flujo de cubeta o una celda de flujo capilar, que rota para generar flujo en la solución. Alternativamente, el canal de flujo viene proporcionado en un tubo y, al discurrir la solución a través de dicho tubo, se genera flujo. En ambos casos, se  
5 entiende que el flujo de cizallamiento viene requerido para la alineación estable de las moléculas objetivo.

**[0022]** Preferentemente la solución se proporciona en una fase acuosa para así permitir que la muestra fluya más fácilmente. O bien, la solución puede presentarse en forma de gas o polvo, pues ambos estados pueden fluir igualmente.

10 **[0023]** Preferentemente, la fuente de luz está configurada para emitir rayos de luz polarizada linealmente. Se considera aún más adecuado si la fuente de luz está diseñada para emitir dos rayos ortogonales de luz polarizada linealmente.

**[0024]** Preferentemente, la fuente de luz es un espectroscopio dicróico lineal.

**[0025]** Preferentemente, el detector está configurado para generar un espectro que  
15 muestre la absorción de la solución con respecto a la longitud de onda.

**[0026]** Preferentemente, la fuente de luz y el detector están dispuestos para emitir y detectar respectivamente la luz atravesando perpendicularmente la dirección del flujo.

**[0027]** De acuerdo con un segundo aspecto de la presente invención, se establece un  
20 método para detectar una molécula objetivo en una solución fluida proporcionando en un canal de flujo un núcleo estructural con una alta relación de aspecto, y teniendo una porción receptora adherida a la molécula objetivo. Seguidamente se hace fluir una solución que contiene potencialmente una molécula objetivo a lo largo del canal de flujo; la luz polarizada atraviesa dicho canal y es detectada tras haberlo atravesado.

**[0028]** Se entenderá que el hacer fluir la solución alinea los núcleos estructurales y las  
25 porciones receptoras con la dirección del flujo. Esto también permite unir la molécula objetivo con la porción receptora. Así, con este proceso, las moléculas objetivo también estarán alineadas dentro del flujo, haciendo que de esta manera sean detectables a través de sus propiedades dicróicas.

**[0029]** El segundo aspecto de la presente invención proporciona un método para  
30 detectar las moléculas objetivo que previamente no eran detectables puesto que no estaban alineadas. El uso de un núcleo estructural alineable, como es un sustrato, para la unión de una porción receptora significa que la porción receptora por sí misma no requiere propiedades de alineación inherentes. Por ello, el método arriba mencionado puede utilizarse para detectar moléculas objetivo que no son alineables por sí mismas y  
35 que no se unen a un núcleo receptor alineable por sí mismo. De esta manera, un tercer aspecto de la presente invención recoge una amplia aplicación pudiendo utilizarse, por ejemplo, para detectar ADN, proteínas y compuesto orgánicos que hasta el momento eran indetectables.

[0030] Junto con lo arriba mencionado, el segundo aspecto de la presente invención proporciona un sencillo método para detectar las moléculas objetivo. Dicho método es relativamente económico de utilizar y fiable dado que no hay muchos componentes implicados.

- 5 [0031] Entre las posibles aplicaciones de los aspectos de la presente invención arriba descritos se encuentran la alineación y detección de moléculas biológicas o químicas en un líquido en movimiento; por ejemplo, en un tubo o en un tubo capilar. Así, se permite la detección o análisis de dichas moléculas en dispositivos de inyección de flujo o en tuberías de distribución de agua.

10

### **Breve descripción de las ilustraciones**

#### **[0032]**

- La Figura 1A ilustra de manera esquemática un sensor molecular de acuerdo con la presente invención.

- 15 - La Figura 1B muestra una vista ampliada de una parte del sensor molecular de la Figura 1A que muestra el método de la presente invención.

- La Figura 2A muestra de manera esquemática la estructura de acuerdo con la presente invención.

- 20 - La Figura 2B ofrece de manera esquemática la estructura de la Figura 2A con puntos de unión para los receptores.

- La Figura 2C muestra de manera esquemática la estructura de la Figura 2B con receptores unidos a los puntos de unión.

- Y la Figura 2D muestra de manera esquemática la estructura de la Figura 2C con las moléculas objetivo ya unidas.

25

### **Descripción detallada de determinadas realizaciones**

- [0033] En relación a la Figura 1A, se muestra un sensor molecular 10 de acuerdo con la presente invención. Dicho sensor 10 comprende un canal de flujo en forma de tubo alargado 12 que normalmente está fabricado en plástico y es opaco. La parte central de dicho tubo 12 está configurado como una ventanilla de observación 14 y está realizada en un material transparente para la longitud de onda de la luz utilizada. En este ejemplo en concreto, la ventanilla de observación 14 está elaborada en cuarzo de vidrio, que es transparente para la luz visible. Así, en este ejemplo, la ventanilla de observación 14 está diseñada para permitir que luz en el rango de longitud de onda de aproximadamente entre 400 nm y 700 nm la atraviese. Junto a uno de los lados de la ventanilla de observación 14 se encuentra la fuente de luz 16. Dicha fuente de luz 16 está configurada para emitir dos rayos ortogonales de luz polarizada linealmente a través de la ventanilla de observación 14 y de ahí a través del canal de flujo. En la parte

opuesta a la fuente de luz 16, al otro lado de la ventanilla de observación 14 y del canal de flujo, se encuentra el detector 18. Dicho detector 18 está diseñado para localizar los rayos de luz emitidos por la fuente de luz 16 una vez que han atravesado la ventanilla de observación 14 y el canal del flujo.

5 **[0034]** Tal y como se muestra en la Figura 1B, varios elementos del sensor 19 están dispuestos en la zona de la ventanilla de observación 14. Cada elemento del sensor 19 comprende un núcleo estructural 20 y una porción receptora 24. Cada núcleo estructural 20 posee una estructura molecular alargada con una relación de aspecto de aproximadamente 1000:1 y puede considerarse un conector rígido. Un extremo de cada  
10 núcleo estructural 20 está unido a la parte interior de la ventanilla de observación 14 por medio de una zona de anclaje 22 que mantiene los extremos de cada uno de los respectivos núcleos estructurales 20 en un área de sujeción dentro de la ventanilla de observación 14. El extremo libre del núcleo estructural 20 está unido a una porción receptora. La porción receptora 24 está unida al núcleo estructural 20 de manera que  
15 está libre para unirse con su molécula objetivo asociada 26. Así, las porciones receptoras 24 pueden considerarse un “anzuelo” para las moléculas objetivo 26.

**[0035]** En uso, la solución líquida 28, que incluye las moléculas objetivo 26, es conducida a través del tubo 12 en la dirección indicada por la flecha 30 en las Figuras 1A y 1B. Dicho flujo 30 hace que los núcleos estructurales 20 se alineen de manera  
20 regular a lo largo de la ventanilla de observación 14. Cuando las moléculas objetivo 26 fluyen lo suficientemente cerca de las porciones receptoras 24, éstas quedarán ligadas a dichas porciones receptoras 24. Puesto que los núcleos estructurales 20 están alineados de forma regular, también lo estarán así todas las porciones receptoras 24. De esta manera, cuando las moléculas objetivo 26 se unan a las porciones receptoras 24,  
25 éstas quedarán también alineadas.

**[0036]** Una vez que los complejos de moléculas objetivo/receptores estén alineados, comenzarán a absorber parte de la luz polarizada linealmente emitida por la fuente de luz 16. De ese modo, una cantidad menor de luz alcanzará el detector 18 cuando las moléculas objetivo 26 estén presentes. Esto permite al detector 18 determinar si las  
30 moléculas objetivo 26 están o no presentes en la solución 28. Dicho detector 18 es capaz de producir un espectro reflejando la absorción de la solución 28 con respecto a la longitud de onda. Dicha información puede utilizarse para monitorizar la naturaleza, alineación, cantidad y estructura de las moléculas objetivo 26 puesto que los cambios en cada uno de dichos factores tendrán como resultado un cambio en los espectros  
35 observados. Monitorizar el flujo 30 durante un tiempo también permite recabar información en cuanto a la afinidad de la interacción entre las porciones receptoras 24 y las moléculas objetivo 26. Así, el sensor molecular 10 de la presente invención podrá servir de instrumento de medida del flujo continuo en línea.

- [0037]** Existen diferentes estructuras que pueden funcionar como posibles núcleos estructurales alineables 20. En concreto, se ha probado que, aunque las proteínas membranarias no están alineadas por naturaleza en el flujo del fluido, las membranas en forma de vesícula son alineables. En la Figura 2A aparece ilustrada de manera esquemática una vesícula membranaria. En este caso, el flujo indicado por la flecha 42 induce a la deformación de la vesícula membranaria 40 para formar un elipsoide alargado que estará alineado con el flujo 42. Cualquier proteína membranaria (no mostrada) que contenga la vesícula membranaria 40 estará también alineada de manera similar con el flujo 42.
- 5
- [0038]** El uso arriba mencionado de la vesícula membranaria 40 se ha ampliado mediante la presente invención para facilitar la alineación de cualquier molécula objetivo en forma de ligando 48, tal y como aparece ilustrado en la Figura 2D. En este caso, se recurre a la extrusión para producir vesículas lípidas 40', mostrada en las Figuras 2B, 2C y 2D. Se prefiere que las vesículas 40' sean vesículas fosfolípidas de una longitud aproximada de 100 nm. Dichas vesículas 40' no son dicroicas y además producen una señal de interferencia muy pequeña. Asimismo son viables vesículas similares 40' con una longitud media entre 100 nm y 140 nm. Además de los lípidos estándar utilizados para formar las conocidas vesículas 40', estas vesículas 40' incluyen puntos de unión en forma de lípidos derivatizados 46 que están diseñados para formar un complejo cerrado con una zona complementaria del receptor, que en este caso es una proteína 44. Un ejemplo de un lípido derivatizado posible es la sal de níquel de 1,2-dioleoyl-sn-glicero-3- $\{[N(5\text{-amino-1-carboxypentyl})\text{iminodiacetic Acid}]succinyl\}$  (DOGS-NTA-Ni). Este particular derivativo lípido 46, que forma parte de la estructura vesicular 40', es capaz de formar un complejo cerrado con un agregado de histidina (no mostrado) en la proteína 44. Los agregados de hexahistidina constituyen la base de muchos métodos comunes de inmovilización de proteínas (a través de un marcador de seis histidinas en la proteína) y así proporcionan una parte ideal de la proteína 44 para la unión a la vesícula 40. De esta manera, en esta realización la vesícula 40' constituye el núcleo estructural y la proteína 44 la porción receptora. Cabe destacar que cada vesícula 40' comprende varias porciones receptoras. Las moléculas objetivo en forma de ligandos 48 para la proteína 44 son capaces de adherirse a un campo de unión de la porción receptora (proteína 44), tal y como se muestra en la Figura 2D. Como resultado de la alineación de la vesícula 40' en el flujo 42, los ligandos 48 estarán también alineados cuando estos se unan a las proteínas 44 y así podrán ser detectados por el sensor molecular mostrado en la Figura 1A.
- 10
- 15
- 20
- 25
- 30
- 35
- [0039]** Los núcleos estructurales 20 mencionados en los ejemplos anteriores pueden utilizarse en fluido libre o directamente unidos o anclados a la ventanilla de observación 14. En una realización, los núcleos estructurales 20 (por ejemplo, las vesículas 40) pueden adherirse a la superficie interna de la ventanilla de observación 14 como una

fina película. Alternativamente, la superficie interna de la ventanilla de observación 14 puede estar químicamente derivatizada para permitir la unión del núcleo estructural 20.

**[0040]** Los sistemas alternativos de acoplamiento para unir una porción receptora a una vesícula lípida pueden utilizar cualquier enlace covalente o no covalente que es capaz  
 5 de unirse al lípido y así incorporarse a la vesícula. Dichos sistemas pueden incluir el uso de grupos reactivos de amina y tiol o biotina. Una característica importante de estos creadores de vesículas es que sólo forman complejos con la proteína (u otro receptor) de su elección (por ejemplo, aquellos que contienen la parte de la molécula diseñada para el acoplamiento, como el marcador de hexahistidina). Esto es importante puesto  
 10 que si no hay selectividad en la interacción entre la estructura alineable y el receptor, los otros constituyentes del fluido que se está estudiando (que puede ser, por ejemplo, una mezcla compleja de sangre o suero) podrían unirse a la estructura y producir una señal LD que interferiría con la señal real y así llevar a falsos positivos. En la realización descrita, el marcador de hexahistidina se eligió para ser utilizado en purificaciones  
 15 selectivas y así eliminar cualquier tipo de unión no deseada. Se pueden utilizar otros sistemas, como los enlaces de avidina-biotina, que podrían proporcionar la selectividad necesaria.

**[0041]** Para eliminar la información de absorción generada por las asociaciones no objetivo se pueden realizar controles al sensor molecular 10 de la presente invención.  
 20 Por ejemplo, pueden utilizarse un complejo de núcleos estructurales 20 (por ejemplo, vesículas 40') que incluyen porciones receptoras 24 cargadas de diferente manera (por ejemplo, proteínas 44), y un complejo de moléculas comúnmente disponibles que no contienen la parte de la molécula objetivo para el acoplamiento, y hacerlos fluir en la solución a través de los núcleos estructurales 20 y cualquier medida de unión utilizando  
 25 LD. La señal resultante puede tomarse como un indicador de ruido de fondo y dicha información puede utilizarse para producir una índice de señal de ruido cuando el sistema se utilice sólo para detectar las moléculas objetivo 26.

**[0042]** De acuerdo con la presente invención, otro sistema alternativo implicaría el uso de polímeros orgánicos de cadena larga, que poseen las propiedades hidrodinámicas  
 30 adecuadas para formar núcleos estructurales alineables, a la vez que contienen grupos químicos funcionales que pueden derivatizarse con porciones receptoras. Dichos polímeros orgánicos tendrán una alta relación de aspecto y podrán presentar forma tanto de disco como de cruz o varilla. Ejemplos concretos de núcleos estructurales aptos incluyen la quitina y el polietilén glicol.

35 **[0043]** Otra realización de la presente invención incluye fagos. Los fagos filamentosos, tales como el M13, están formados por un largo tubo de proteínas (de aproximadamente 500 nm de largo y 5 nm de diámetro) que rodea una parte de ADN. De esta forma, el fago puede actuar como núcleo estructural capaz de alinearse en el flujo de cizallamiento. Una vez alineado, los expertos han descubierto que las proteínas en el

fago producen una importante señal de LD medible. También han mostrado que la unión de un ligando a receptores en la superficie hace que el fago altere su señal LD. Dado que dicha alteración en la señal LD puede ser el resultado de una alteración total en las propiedades hidrodinámicas del fago o de la aparición de características espectrales del  
5 ligando ahora alienado, los expertos muestran que este sistema también puede utilizarse para medir la afinidad ligando-fago.

**[0044]** Como ventaja, las inmunoglobinas u otras proteínas en la superficie del fago que pueden funcionar como receptores tienen afinidades con determinadas moléculas objetivo. Así, no sólo se pueden utilizar cepas de fago específicas para detectar la  
10 presencia de una bacteria en concreto, como la E. coli, C. difficile, SARM o VRSA, sino que también se puede modificar un fago genéticamente para detectar la presencia de ligandos tales como SARS, tuberculosis, VIH y hepatitis. Así pues, las realizaciones de la presente invención pueden aplicarse a un gran número de situaciones.

**[0045]** En la realización de las Figuras 1A y 1B, no se requiere que el tubo alargado  
15 sea de plástico y podría estar realizado en cualquier otro material biocompatible. La ventanilla de observación 14 puede diseñarse en zafiro, que permite la transmisión de luz visible, o en cuarzo o CaF<sub>2</sub>, que son transparentes a las longitudes de onda ultravioletas. En general, para la mayoría de las aplicaciones, una longitud de onda de entre 180 nm y 800nm es correcta. No obstante, pueden utilizarse otros tipos de  
20 materiales para crear una ventanilla de observación 14 con las propiedades de transmisión deseables.

**[0046]** Los expertos en esta materia valorarán el hecho de que se puedan realizar varias modificaciones sobre las realizaciones arriba mencionadas sin desviarse del campo de la presente invención, tal y como se define en las reivindicaciones adjuntas. Por  
25 ejemplo, pese a que dicho estudio se ha llevado a cabo básicamente sobre la alineación y detección de biomoléculas, la presente invención es igualmente aplicable a otro tipo de moléculas.

**Reivindicaciones**

1. Un sensor molecular que contiene:
- Un canal de flujo (12) configurado para hacer fluir una solución (28) que contiene en potencia una molécula objetivo (26);
  - 5 - Una fuente (16) de luz polarizada;
  - Un detector (18) dispuesto para recibir luz procedente de la fuente tras haber atravesado el canal de flujo;
  - Y un elemento del sensor (19) que comprende un núcleo estructural (20) con una relación de aspecto de al menos 75:1 dispuesta en el canal de flujo y una porción
  - 10 receptora (24), para la molécula objetivo, adherida al núcleo estructural.
2. El sensor molecular según la reivindicación 1 donde la porción receptora es dicroica.
3. El sensor molecular de la reivindicación 1 o 2 donde el núcleo estructural no es
- 15 dicroico.
4. El sensor molecular según cualquier reivindicación precedente que comprende varios núcleos estructurales (20).
- 20 5. El sensor molecular según cualquier reivindicación anterior donde los núcleos estructurales (20) poseen, además, varias porciones receptoras adheridas.
6. El sensor molecular según la reivindicación 5 donde cada porción receptora tiene la misma afinidad de unión a una molécula objetivo determinada (26).
- 25
7. El sensor molecular según cualquiera de las reivindicaciones precedentes donde el núcleo o los núcleos estructurales están anclados en el canal de flujo de manera que, en su uso, dichos núcleos son capaces de alinearse en un flujo pero su localización está fijada dentro del canal de flujo.
- 30
8. El sensor molecular según cualquiera de las reivindicaciones anteriores comprende, además, una celda de flujo capaz de rotar para generar flujo en la solución.
9. El sensor molecular según cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 7 contiene,
- 35 además, un tubo que hace que, al discurrir la solución a través de dicho tubo, se cree flujo.

10. El sensor molecular según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde la fuente de luz (16) es una fuente de rayos de luz polarizada linealmente.
11. El sensor molecular según cualquiera de las reivindicaciones precedentes donde la  
5 fuente de luz (16) constituye un estroscopio dicroico lineal.
12. El sensor molecular según cualquiera de las reivindicaciones precedentes donde el detector (18) genera un espectro que muestra la absorción de la solución con respecto a la longitud de onda.
- 10
13. El sensor molecular según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde la fuente de luz (16) y el detector (18) están diseñados para emitir y detectar respectivamente la luz al atravesar perpendicularmente en dirección al flujo.
- 15
14. Un método para detectar una molécula objetivo (26) en la solución en movimiento (28) que comprende:
- En un canal de flujo (12), un núcleo estructural (20) con una relación de aspecto de al menos 75:1 y una porción receptora (27), para la molécula objetivo, a ella adherida.
- 20
- Una solución en movimiento (28) que puede contener una molécula objetivo (26) a lo largo del canal de flujo (12).
  - Una luz polarizada que atraviesa el canal de flujo.
  - Y una luz polarizada detectada una vez atravesado el canal de flujo.

