

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 428 853**

51 Int. Cl.:

G01N 27/327 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.03.2010 E 10711170 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2013 EP 2414821**

54 Título: **Dispositivo del tipo de una cámara electroquímica así como procedimiento para la producción y la utilización del dispositivo**

30 Prioridad:

31.03.2009 DE 102009015114

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

11.11.2013

73 Titular/es:

**SIEMENS AKTIENGESELLSCHAFT (100.0%)
Wittelsbacherplatz 2
80333 München, DE**

72 Inventor/es:

**FREY, ALEXANDER;
GUMBRECHT, WALTER;
PAULICKA, PETER;
SCHIENLE, MEINRAD y
STANZEL, MANFRED**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 428 853 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

Dispositivo del tipo de una cámara electroquímica así como procedimiento para la producción y la utilización del dispositivo.

5 La presente invención se refiere a un dispositivo del tipo de una cámara electroquímica para la verificación de sustancias químicas o bioquímicas en líquidos, así como a un procedimiento para la producción del dispositivo y su utilización.

10 La verificación de sustancias en líquidos tiene cada vez más importancia tanto en la química como en la bioquímica. Con ello se usan de forma creciente sensores electroquímicos, como por ejemplo se conoce del documento DE 10 2004 019 357 A1, que están dispuestos por motivos de espacio sobre un portador en forma de una matriz. Posibles materiales para los portadores son materiales semiconductores, como por ejemplo silicio Si, germanio Ge o arseniuro de galio GaAs. Si se usan estos materiales, la técnica de semiconductores hace posible la integración de circuitos para el tratamiento de señales y la valoración de las señales de los sensores electroquímicos sobre el mismo portador, sobre el cual se encuentra la matriz de sensores.

15 Debido a que el material portador Si, Ge o GaAs es caro y complicado de producir, se intenta configurar las estructuras como por ejemplo sensores lo más pequeñas posibles. Con ello es necesario prestar atención a que se garantice un modo de funcionamiento fiable. Normalmente un sensor se compone de electrodos interdigitales en forma de dedo, con una anchura estructural mínima en el margen de los micrómetros. Como materiales de electrodos se plantean entre otros oro, platino, plata/cloruro de plata u otros materiales. Los sensores están dispuestos normalmente sobre la superficie del portador, con separaciones entre ellos en un margen de unos cientos de nanómetros hasta varios milímetros.

20 Para poder verificar electroquímicamente sustancias químicas o bioquímicas en un líquido los electrodos se recubren con moléculas, que interactúan con las sustancias. La interacción se verifica electroquímicamente, directa o indirectamente. Diferentes sensores están recubiertos con diferentes moléculas, de tal modo que en el líquido pueden verificarse diferentes sustancias químicas o bioquímicas.

25 El recubrimiento de los sensores o de electrodos aislados se realiza con frecuencia mediante moteado de moléculas sobre los sensores. Sin embargo, conforme disminuye el tamaño estructural de los sensores y electrodos, esto se hace cada vez más complicado. En el caso de tamaños de electrodos en el margen de nanómetros un recubrimiento ya no puede realizarse mediante moteado. Se utilizan procedimientos caros y complicados como por ejemplo fotolitografía, para aplicar sobre los electrodos moléculas específicas. Es necesario un ajuste preciso de las
30 instalaciones durante el recubrimiento, lo que hace propenso a los fallos y caro el procedimiento de producción de las matrices de sensores.

35 La tarea de la presente invención consiste en indicar un procedimiento que, en comparación con el estado de la técnica, pueda producirse de forma más sencilla y barata. En especial la tarea de la invención consiste en indicar un procedimiento, en el que pueda prescindirse de un ajuste complicado durante una puesta en unión de las moléculas para verificar sustancias químicas o bioquímicas. Asimismo la tarea de la invención consiste en indicar un procedimiento para producir el dispositivo y una utilización del dispositivo, en los que sin un ajuste complicado, con ayuda de moléculas que enlazan específicamente con las sustancias a verificar, los sensores puedan llevarse a una unión directa o indirecta con las moléculas, por ejemplo a través del líquido, y a la hora de verificar los sensores puedan verificar específicamente las sustancias electroquímicamente.

40 La tarea indicada es resuelta con relación al dispositivo con las particularidades de la reivindicación 1, con relación al procedimiento para producir el dispositivo con las particularidades de la reivindicación 15 y con relación a la utilización del dispositivo con las particularidades de la reivindicación 17.

45 De las reivindicaciones dependientes asociadas en cada caso se deducen configuraciones ventajosas del dispositivo conforme a la invención, del procedimiento conforme a la invención y de la utilización conforme a la invención. Con ello las particularidades de las reivindicaciones siguientes pueden combinarse con particularidades de una reivindicación subordinada asociada en cada caso o, de forma preferida, también con particularidades de varias reivindicaciones subordinadas asociadas.

50 El dispositivo conforme a la invención para verificar sustancias químicas o bioquímicas en líquidos presenta un primer portador y un segundo portador. Una superficie del primer portador comprende una matriz de sensores con varios sensores electroquímicos. El segundo portador presenta una capa porosa con al menos una región funcional, en la que están inmovilizadas moléculas de retención que enlazan específicamente. La al menos una región funcional está dispuesta de forma directamente adyacente al menos a una región no funcional. La superficie del primer portador y la capa porosa del segundo portador están mutuamente en contacto directa o indirectamente, a

través de un medio líquido. A la al menos una región funcional y a la al menos una región no funcional están asociados en cada caso varios sensores de la matriz de sensores.

5 Mediante la disposición de los sensores en forma de matriz sobre el primer portador y mediante la asociación en cada caso de varios sensores al menos a una región funcional y al menos a una región no funcional del segundo portador, durante una medición electroquímica es posible diferenciar con resolución espacial entre diferentes regiones. Puede prescindirse de un ajuste exacto del primer portador con relación al segundo durante una puesta en contacto.

Durante la introducción del líquido con sustancias a verificar en el segundo portador y durante una medición electroquímica con

10 ayuda de los sensores de la matriz de sensores, los sensores que están en contacto con una región funcional producen una señal de medición más intensa. Esto es causado por la interacción entre las sustancias a verificar y las moléculas de retención. Los sensores que están en contacto con regiones no funcionales no producen ninguna señal o sólo una pequeña pequeña, normal para las reacciones secundarias.

15 Cuantos más sensores estén asociados a las respectivas regiones, con mayor precisión podrá realizarse la resolución espacial de las regiones y la asociación de las reacciones químicas o bioquímicas a regiones. La resolución es análoga a la resolución de una cámara óptica. Con un mayor número de píxeles ópticamente activos de una cámara óptica se consigue una mayor resolución de una imagen óptica captada. No es necesario un ajuste exacto de la cámara sobre el objeto a captar. Los valores de luminosidad o color de los píxeles de la imagen captada producen en el examen total unos contornos del objeto, con los éste puede identificarse claramente dentro de la imagen. Después de la identificación del objeto, es decir la diferenciación del fondo, pueden valorarse con mayor
20 precisión sus características.

Análogamente a la cámara óptica funciona el dispositivo conforme a la invención, el cual puede denominarse cámara electroquímica. En cada caso a una región están asociados varios sensores. Las reacciones químicas o bioquímicas en la región respectiva son medidas por varios sensores y reproducidas. Las reacciones muy diferentes
25 en una región funcional en comparación con una región no funcional conducen a señales en los sensores asociados a regiones no funcionales, que son diferentes a las señales, medidas en sensores asociados a una región no funcional. Mediante la disposición de los sensores en forma de matriz y el conocimiento ligado a ello de su posición espacial sobre el primer portador, mediante la asociación de los sensores a las regiones, puede diferenciarse entre la posición de diferentes regiones. A través de la disposición espacial de los sensores sobre el primer portador
30 puede establecerse la posición espacial de las regiones en la capa porosa del segundo portador.

La capa porosa del segundo portador del dispositivo conforme a la invención presenta, de forma especialmente preferida, al menos dos regiones funcionales diferentes, distanciadas entre sí espacialmente. Con ello puede diferenciarse al menos una región de al menos otra región, en cuanto a sus moléculas de retención. Por medio de esto se hace posible la verificación de diferentes sustancias químicas o bioquímicas.

35 Se obtienen una estructura especialmente sencilla del dispositivo y una buena asociación de los sensores a las regiones si cada sensor de la matriz de sensores presenta una superficie activa, la cual esté dispuesta en primer plano, y superficies de las al menos dos regiones funcionales configuran un segundo plano, que esté dispuesto enfrente del primer plano. Con ello la superficie de una región funcional en el segundo plano puede ser en cada caso mayor que la suma de las superficies activas de sensores, que estén asociados en cada caso a la región funcional
40 en el primer plano. También sin un ajuste preciso se obtiene mediante esta estructura del dispositivo, a la hora de llevar a contacto el primer portador con el segundo, automáticamente la asociación de varios sensores en cada caso a una región.

Las moléculas de retención pueden estar inmovilizadas en el material poroso, distribuidas tridimensionalmente en el espacio. Por medio de esto se disponen especialmente muchas moléculas de retención en el espacio más estrecho
45 posible en el material poroso y las muchas moléculas de retención pueden formar mucha sustancia a verificar. Por medio de esto se hace grande la relación señal-ruido durante la medición electroquímica y se obtiene una gran diferencia entre señales de regiones funcionales y regiones no funcionales.

De forma correspondiente a la idea de una cámara electroquímica, los sensores pueden estar dispuestos en forma de una matriz de píxeles regularmente sobre la superficie del primer portador. Por medio de esto puede valorarse
50 más fácilmente la asociación espacial de señales de medición.

Una superficie especialmente activa de los sensores puede disponerse sobre la superficie de una zona determinada, si los diferentes sensores presentan un perímetro rectangular, de forma especialmente preferida cuadrado. Mediante la superficie activa relativamente grande de los sensores se obtiene una buena relación señal/ruido y unas señales de medición relativamente grandes.

Una asociación espacial sencilla de los sensores a las regiones se obtiene si regiones funcionales distanciadas en forma de una matriz están dispuestas en y/o sobre la capa porosa, con un número m de diferentes regiones funcionales con una separación espacial fundamentalmente igual en cada caso mutua. De forma preferida la matriz de sensores presenta un número de n sensores, que están asociados a regiones funcionales, y el número n de sensores asociados a regiones funcionales es x veces el número m de regiones funcionales, siendo x mayor que o igual a dos. Mediante la disposición regular de las regiones funcionales y la asociación de los sensores de la matriz de sensores se facilitan la valoración de los resultados de medición y la interpretación de la imagen que se obtiene de los resultados de medición. Por medio de esto puede obtenerse con una complejidad reducida, a partir de las señales de los sensores y del conocimiento de su posición así como del conocimiento de la separación mutua de las regiones funcionales, una imagen con resolución espacial de las reacciones químicas o bioquímicas en el segundo portador, y asociarse reacciones a las señales de medición y/o a las regiones.

Se obtienen formas de ejecución favorables del dispositivo, que pueden producirse fácilmente, si el número m de regiones funcionales es de 8 y el número n de sensores es de 32, y a cada región funcional están asociados 4 sensores, o si el número m de regiones funcionales es de 24 y el número n de sensores es de 384, y a cada región funcional están asociados 16 sensores, o si el número m de regiones funcionales es de 8 a 24 y el número n de sensores es de 32 a 384.

Los sensores pueden estar estructurados con electrodos interdigitales. Como material de electrodo se utiliza de forma preferida oro no recubierto. En el caso de esta estructura pueden medirse muchos productos de reacción químicos y bioquímicos electroquímicamente con una gran señal formada por corriente o tensión. El oro como material de electrodo es con ello estable incluso durante largo tiempo.

La capa porosa tiene de forma preferida la forma de una hoja (forma planar), en especial la forma de una tira de papel. La capa porosa puede estar configurada por ejemplo con un grosor de 100 micrómetros y presentar una superficie de unos pocos milímetros cuadrados. Las regiones funcionales pueden estar configuradas en forma de tiras o barras, en especialmente barras paralelepípedicas, que se limitan por dos superficies de corte fundamentalmente paralelas, distanciadas entre sí, a lo largo de ejes de sección transversal de la capa porosa a través de la capa porosa. Con ello las tiras y barras de la región funcional están dispuestas de forma preferida perpendicularmente a un eje longitudinal de la capa porosa. Por medio de esto se obtiene una estructura del segundo portador análoga a la de una tira de prueba, como la que se usa por ejemplo en pruebas de glucosa o embarazo.

La capa porosa está estructurada de forma preferida con una membrana o comprende una membrana, en especial de celulosa, nitro-celulosa, papel de lateral-flow o un tejido. Estos materiales son capaces de enlazar moléculas de retención así como aspirar líquidos mediante fuerzas capilares y transportarlos a través del material. Por medio de esto para el modo de funcionamiento del dispositivo conforme a la invención no se necesita ninguna instalación para el transporte del líquido, como por ejemplo bombas. Naturalmente el uso de las instalaciones antes citadas puede realizarse adicionalmente, para conseguir un transporte de líquido más rápido o uniforme.

Como moléculas de retención pueden utilizarse entre otros anticuerpos o antígenos, aptámeros, fragmentos de DNA, fragmentos de RNA, o péptidos, respectivamente combinaciones de estas moléculas. La elección de las moléculas de retención es función de las sustancias químicas o bioquímicas que deben verificarse con el dispositivo.

En el procedimiento conforme a la invención para producir el dispositivo con un primer portador, que comprende una matriz de sensores que está estructurada con varios sensores electroquímicos, se aplica un segundo portador. El segundo portador comprende al menos una región funcional en o sobre una capa porosa, en la que están inmovilizadas moléculas de retención que enlazan específicamente. La al menos una región funcional se dispone directamente de forma adyacente al menos a una región no funcional en o sobre la capa porosa. Mediante la aplicación se asocian a la al menos una región funcional y a la al menos una región no funcional en cada caso varios sensores de la matriz de sensores.

Con ello es ventajoso que el primer portador pueda reutilizarse con la matriz de sensores. El segundo portador puede utilizarse como artículo desechable y sustituirse después de cada uso del dispositivo. Con uno y el mismo primer portador pueden llevarse a cabo diferentes pruebas con diferentes segundos portadores funcionales. También pueden con uno y el mismo primer portador llevarse a cabo pruebas, por ejemplo con muestras de diferentes pacientes. Con ello los segundos portadores se sustituyen en cada caso después de un análisis de una muestra de paciente. En caso necesario, el segundo portador puede limpiarse y desinfectarse entre dos análisis, ya que en especial las superficies de oro y óxido de silicio del primer portador y de la matriz de sensores son muy insensibles frente a medios de limpieza y medios desinfectantes, así como frente a DNA, RNA y medios que descomponen proteínas. Al contrario que los recubrimientos orgánicos no resultan destruidas. Las moléculas de retención orgánicas, que en el estado de la técnica se aplican como recubrimiento directamente sobre los sensores, están contenidas en el caso del procedimiento conforme a la invención en el segundo portador poroso, y no resultan dañadas durante una limpieza del primer portador.

- De forma especialmente ventajosa el procedimiento conforme a la invención se divide en pasos consecutivos en el tiempo para la ejecución de la invención. La al menos una región funcional se introduce en un primer paso en la capa porosa mediante dispensación, presión y/o moteado. En un segundo paso, temporalmente subsiguiente, la capa porosa se lleva a unión directa o indirecta con la matriz de sensores del primer portador. Esto puede realizarse en especial mediante la colocación del segundo portador sobre el primer portador. Al introducir líquido en la capa porosa, la al menos una región funcional y la al menos una región no funcional, en cada caso con los varios sensores asociados, entran en unión mutua a través del líquido. Entrar en unión significa en este caso que moléculas como por ejemplo productos reactivos de reacciones químicas o bioquímicas, que indican el enlace de las sustancias a analizar con las moléculas de retención, pueden llegar hasta los sensores electroquímicos (por ejemplo mediante difusión o campos eléctricos con las moléculas cargadas). Sobre los sensores electroquímicos se verifican después electroquímicamente las moléculas, por ejemplo de los productos reactivos. Por medio de esto se realiza directamente, o indirectamente en el caso de productos reactivos, una verificación de las sustancias químicas o bioquímicas en el líquido investigado, en el caso de que las sustancias sean enlazadas por las moléculas de retención.
- En el caso de la utilización conforme a la invención del dispositivo se aplica un líquido con sustancias a verificar sobre un segundo portador, el cual comprende una capa porosa con al menos una región funcional, en la que están inmovilizadas moléculas de retención que enlazan específicamente para enlazar con las sustancias a verifica. La al menos una región funcional está dispuesta directamente de forma adyacente al menos a una región no funcional en la capa porosa. El líquido es transportado en especial mediante fuerzas capilares, al menos parcialmente, a través de la capa porosa, en donde las sustancias a verificar enlazan específicamente con las moléculas de retención. Con ayuda de sensores de un matriz de sensores sobre un segundo portador, que están asociados a la al menos una región funcional, las sustancias enlazadas se verifican electroquímicamente directa o indirectamente. Con ello los sensores de la matriz de sensores sobre el segundo portador, que están asociados a la al menos una región no funcional, verifican que en la región no funcional no se ha enlazado ninguna sustancia a verificar.
- Para el procedimiento conforme a la invención para producir el dispositivo y la utilización del dispositivo se obtienen las ventajas citadas anteriormente, ligadas al dispositivo conforme a la invención.

A continuación se explican con más detalle formas de ejecución preferidas de la invención con perfeccionamientos ventajosos conforme a las particularidades de las reivindicaciones subordinadas, con base en las siguientes figuras, sin estar sin embargo limitadas a las mismas.

Aquí muestran:

la figura 1, esquemáticamente, una vista oblicua de un dibujo fragmentario del dispositivo conforme a la invención con un primer y un segundo portador, y

la figura 2, esquemáticamente, una vista en planta sobre el segundo portador con regiones funcionales circulares, en donde el primer portador situado debajo con matriz de sensores está reproducido como transparencia a través del segundo portador, y

la figura 3, esquemáticamente, una vista en planta sobre el segundo portador análogamente a la figura 2, pero con regiones funcionales en forma de tiras o barras, y

la figura 4, esquemáticamente, una representación en corte a través de un dispositivo de forma correspondiente a la figura 3, y

la figura 5, esquemáticamente, una representación en corte del dispositivo poco antes de que el segundo portador se lleve a unión con el primer portador, y

la figura 6 una representación en corte del dispositivo con reproducción aumentada de un sensor con electrodos interdigitales, así como una representación esquemática de la reacción de verificación en una región funcional.

La figura 1 muestra el dispositivo 1 conforme a la invención. El dispositivo 1 presenta un primer portador 2, sobre cuya superficie está configurada una matriz de sensores 3 con sensores electroquímicos 10. Los sensores electroquímicos 10 están configurados circularmente y están dispuestos regularmente, con separaciones mutuas iguales, sobre la superficie del primer portador 2.

Sobre o en el primer portador 2 están configuradas uniones eléctricas, que no se han representado para mayor sencillez, para formar conexiones eléctricas 7. Las conexiones eléctricas 7 hacen posible una conexión eléctrica del primer portador 2 a una alimentación de tensión no representada así como a una unidad de control/lectura y tratamiento de datos. Los sensores electroquímicos 10 pueden activarse y leerse individualmente o en paralelo a través de las conexiones 7 y las uniones eléctricas. Un tratamiento de señales de medición, como por ejemplo

valores de corriente-tensión de los sensores 10, puede realizarse externamente en la unidad de lectura y tratamiento de datos. Alternativamente pueden estar también configurados circuitos integrados sobre o en el primer portador, los cuales tratan señales electroquímicas y editan los resultados como señales eléctricas, a través de contactos 7, a una unidad indicadora externa con representada.

5 Por encima de la superficie del primer portador 2 con matriz de sensores 3 se encuentra conforme a la figura 1 una capa porosa 4 de un segundo portador. En la capa porosa 4 están configuradas con iguales separaciones mutuas, regiones funcionales 5 en forma de matriz, en las que están inmovilizadas moléculas de retención 8 (véase la figura 6). Las regiones funcionales 5 están separadas entre sí mediante una región no funcional 6. Las regiones funcionales 5 representadas en la figura 1 están configuradas circularmente, en una capa lisa 4 en forma de hoja. En forma de hoja significa con relación a esto que la forma es análoga a la de una hoja de papel. La dilatación del material de la capa porosa 4 es en un plano bastante mayor que en la perpendicular al plano. Las regiones funcionales 5 circulares representadas en la figura 1 representan de este modo regiones cilíndricas, que sin embargo presentan una superficie envolvente casi despreciable respecto a su superficie base.

15 Las superficies base de las regiones funcionales 5, que están dispuestas enfrente del plano de los sensores 10, están situadas en un plano. Este plano, llamado desde ahora el plano de las regiones funcionales, es paralelo al plano de los sensores 10 de la matriz de sensores. La superficie (respectivamente superficie base) de una región funcional 5 en el plano de las regiones funcionales es mayor que la superficie activa de un sensor 10. Con superficie activa de un sensor 10 se designa con ello la superficie que, durante la medición electroquímica, está en contacto con líquido y de este modo participa activamente en la medición, por medio de que pueden producirse reacciones químicas sobre la misma, respectivamente un paso de carga a través de ésta.

25 Durante el uso del dispositivo 1, la capa porosa 4 del segundo portador está situada directamente sobre el primer portador 2 y de este modo sobre la matriz de sensores 3. Los contactos 7 están distanciados de la capa porosa 4, para que durante una utilización del dispositivo con entren en contacto con el líquido y no causen ningún cortocircuito. También pueden estar dispuestos sobre la cara trasera del primer portador 2. Las líneas a trazos en la figura 1 reproducen la asociación espacial de la capa porosa del segundo portador 4 con relación al primer portador 2, cuando el segundo portador 4 se coloca sobre el primer portador 2.

30 En la figura 2 se ha representado esquemáticamente una vista en planta sobre el dispositivo 1 conforme a la invención reproducido en la figura 1. Con ello no se muestran los contactos 7 para una mayor sencillez. Se reproduce una situación, en la que la capa porosa 4 del segundo portador está en contacto directo con el primer portador 2. El segundo portador 4, con regiones funcionales 5 circulares, se ha representado de forma transparente para que el primer portador 2 con matriz de sensores 3 situada por debajo pueda representarse como transparencia a través del segundo portador 4. Normalmente el segundo portador 4 no está configurado ópticamente transparente.

35 Los sensores 10 representados en la figura 2 son cuadrados y están dispuestos con una pequeña separación mutua, en donde configuran una matriz de píxeles, análogamente a un chip de cámara óptica para captar imágenes ópticas. La matriz de sensores 3 está en contacto con la capa porosa 4 del segundo portador, en donde básicamente los poros de la capa porosa están rellenos de luz. Al llenar el dispositivo con el líquido a analizar el líquido es atraído por ejemplo mediante fuerzas capilares hasta los poros, que son adherentes. Una vez terminado el llenado los sensores 10 de la matriz de sensores 3 están en contacto, directamente o indirectamente a través del líquido, con la capa porosa 4 del segundo portador.

40 Las regiones funcionales 5 en la figura 2 están configuradas circularmente en la vista en planta y están dispuestas con la misma separación mutua en filas, en la forma de matriz de la capa porosa 4. En las regiones funcionales 5 están inmovilizadas moléculas de retención, es decir, ligadas al material poroso en una distribución uniforme. Posible enlaces pueden realizarse por ejemplo mediante interacciones de Coulomb, enlaces covalentes o mediante la limitación de la velocidad de grandes moléculas en pequeños poros. Las regiones funcionales 5 están abrazadas por completo por una región no funcional 6, que está configurada de forma adhesiva, en la capa porosa 4 a lo largo del plano de las regiones funcionales. Perpendicularmente al plano de las regiones funcionales las regiones funcionales 5 están configuradas por completo de forma pasante a través de la capa porosa 4.

45 Al colocar el segundo portador 4 sobre el primer portador 2 se asocian sensores 10 a las regiones funcionales 5. Se asocian significa, en la vista en planta de la figura 2, que están situados dentro de las regiones funcionales 5 circulares. Análogamente se asocian sensores 10 a la región no funcional 6 al colocar el segundo portador 4 sobre el primer portador 2. Están situados dentro de la región no funcional 6 en la figura 2, y por fuera de las regiones funcionales 5 circulares.

55 Si el dispositivo de la figura 2 se llena con líquido, que contiene sustancias 9 a verificar, éstas enlazan con moléculas de retención 8 (véase la figura 6) específicamente en las regiones funcionales 5 en las que las moléculas de retención 8 que enlazan específicamente están inmovilizadas para estas sustancias 9. En el caso de una medición electroquímica los sensores 10 asociados a estas regiones producen unas señales, que indican el enlace específico de las sustancias 9 a verificar. Los sensores 10 que están asociados a la región no funcional 6, miden sólo miden

reacciones secundarias, como por ejemplo la formación y el trasbordo de capas dobles. Las regiones funcionales 5, en las que no se ha ligado ninguna sustancia 9 a verificar, también miden sólo reacciones secundarias. Los errores, como los que se producen por ejemplo mediante la difusión y los movimientos en el campo eléctrico de productos reactivos durante la verificación de sustancias 9 ligadas específicamente, se desprecian en esta reflexión.

5 Si los sensores 10 asociados a una región funcional 5 miden grandes señales, por ejemplo en el caso de mediciones amperométricas, directa o indirectamente mediante el enlace de una sustancia 9 a revisar con las moléculas de retención 8 específicas que están inmovilizadas en la región funcional 5, los sensores 10 en la región no funcional 6 pueden medir pequeñas señales, por ejemplo pequeñas corrientes. Los sensores 10, que están situados sobre el perímetro de la región funcional 5 circular, miden señales o corrientes que están situadas entre las señales o corrientes de los sensores 10 de las regiones no funcionales 6. Con ello el tamaño de señal o corriente puede ser una medida de la superficie común entre sensor 10 y región funcional 5.

15 Puede prescindirse de un ajuste preciso del segundo portador 4 a la hora de aplicarse sobre, respectivamente llevarse a contacto con el primer portador 2. A causa de la disposición de los sensores 10 en forma de matriz y una asociación de más de un sensor 10 en cada caso a una región funcional 5 y a una región no funcional 6, en el caso de una medición electroquímica con base en las señales es necesario diferenciar la posición de las regiones con relación a los sensores. Las sustancias introducidas adicionalmente en las regiones funcionales 5, que son activas electroquímicamente, pero que no dificultan ni impiden la verificación electroquímica del enlace de las sustancias 9 a verificar en el líquido, pueden mejorar ulteriormente una diferenciación. De este modo pueden diferenciarse también regiones funcionales 5 de la región no funcional 6, en la que no enlazan ninguna sustancia desde el líquido, ya que estas sustancias a verificar no están contenidas en el líquido (prueba negativa).

20 Los sensores 10 están dispuestos en forma de matriz con separaciones mutuas regulares, en donde las separaciones deberían estar configuradas lo más pequeñas posibles, aunque presentan un valor que minimiza una diafonía como problema durante la medición electroquímica. Cuantos más sensores 10 estén dispuestos sobre la superficie con una separación reducida, mayor será la resolución electroquímica espacial (análoga a la resolución óptica en cámaras) y la diferenciación de las regiones funcionales 5. Los valores normales para la separación de los sensores están en un margen de micrómetros, en especial de 100 a 1.000 micrómetros. Para una resolución mayor las separaciones pueden configurarse también en el margen de nanómetros. En el caso de análisis que no necesiten una resolución espacial elevada, son también posibles separaciones en el margen de milímetros hasta centímetros.

25 Mediante la disposición de los sensores 10 en forma de matriz con separación reducida y regiones funcionales 5 así como regiones no funcionales 6, que son bastante mayores que la superficie activa de un sensor 10, al aplicarse el segundo portador 4 sobre el primer portador 2 se garantiza que a cada región funcional 5 así como a cada región no funcional 6 estén asociados varios sensores 10, es decir, que en la vista en planta de la figura 2 estén situados en cada caso varios sensores 10 por debajo de una región 5, 6 respectiva. De este modo se garantiza, con independencia de la posición exacta del primer portador 2 con relación al segundo portador 4, que durante una medición electroquímica para cada región 5, 6 los sensores 10 entreguen una señal de medición. El tamaño de la señal de medición produce en la valoración qué sensor 10 está asociado a qué región 5, 6. En la totalidad de los sensores 10 se obtiene, en el caso de conocerse su disposición espacial, una imagen electroquímica del segundo portador 4, análoga a una imagen óptica a la hora de reproducir objetos con ayuda de una cámara CCD óptica.

30 Con base en los contornos que se producen, respectivamente en la posición de los sensores 10, entre los que se miden señales que se diferencian mucho, pueden diferenciarse entre sí las regiones 5, 6, respectivamente delimitarse mutuamente y asociarse espacialmente, y con base en el tamaño de las señales pueden identificarse las regiones 5, 6. El tamaño de la señal es análogo al valor de gris en una imagen óptica en blanco y negro. Los objetos pueden diferenciarse de un fondo mediante grandes diferencias de valores adyacentes, que reproducen contornos, e identificarse con base en la estructura o la distribución de los valores dentro de un contorno (produce por ejemplo una cara o una casa ... en una imagen) y en la forma del contorno. Algo análogo es aplicable a los valores de medición electroquímicos de los sensores 10 de la matriz de sensores 3, que producen una reproducción electroquímica del segundo portador 4.

35 En la figura 3 se muestra un dispositivo con un primer portador 2 y una capa porosa del segundo portador 4, que a diferencia del dispositivo de la figura 2 presenta regiones funcionales en forma de barra o de tira en lugar de una forma circular o cilíndrica. El portador 4 de la figura 3 presenta un eje longitudinal desde el lado izquierdo al derecho de la figura 3. Perpendicularmente al eje longitudinal en el plano del dibujo el portador 4 presenta un eje transversal. Los ejes transversales del portador 4 o de la capa porosa del portador 4 son idénticos a los ejes longitudinales de la forma de barra o de tira de las regiones funcionales 5. Las regiones funcionales 5 representadas en la figura 3 están configuradas completamente pasantes tanto a lo largo de su eje longitudinal como a lo largo de su altura a través de la capa porosa. Alternativamente pueden estar configuradas también sólo parcialmente a lo largo de su eje longitudinal y/o a lo largo de su altura en o sobre el material poroso. Por altura de las regiones funcionales 5 se designa con ello la dilatación a lo largo de su eje, que está configurado perpendicularmente al eje longitudinal y al eje transversal del portador 4.

En la figura 4 se muestra una sección transversal a lo largo de un eje longitudinal del dispositivo representado en la figura 3. Las regiones funcionales 5 y las regiones no funcionales 6, que están configuradas en la capa porosa del segundo portador 4, están en contacto directo con la matriz de sensores 3, la cual está configurada en el lado delantero del primer portador 2. Las regiones funcionales 5 configuradas de forma pasante a través de la capa porosa 4 separan la región no funcional 6 en varias regiones no funcionales 6, separadas y distanciadas entre sí por completo espacialmente. Las regiones funcionales y no funcionales 5 y 6 están dispuestas alternativamente en la capa porosa 4 a lo largo de su eje longitudinal. Las regiones funcionales 5 en forma de barra producen cuadrados, en cuyo volumen están inmovilizadas las moléculas de retención 8 (véase la figura 6) distribuidas uniformemente. En diferentes regiones funcionales 5 pueden estar dispuestas diferentes moléculas de retención 8, con lo que diferentes regiones funcionales 5 se usan para verificar diferentes sustancias 9 a partir del líquido con sustancias a verificar.

En la figura 5 se ha representado el dispositivo de la figura 4, en el estado antes o después del cual el primer portador 2 se ha llevado a contacto con el segundo portador 4. El primer portador 2 puede volver a utilizarse, en donde el segundo portador se sustituye como portador desechable. De este modo pueden ahorrarse costes, por ejemplo a la hora de analizar muestras de paciente de diferentes pacientes. Entre dos utilizaciones del portador 2, éste puede limpiarse o desinfectarse.

En la figura 6 se muestra esquemáticamente en funcionamiento el dispositivo representado en la figura 4. Una gota con el líquido a analizar con sustancias 9 a verificar se aplica sobre la capa porosa 4. A causa de las fuerzas capilares la capa porosa 4 succiona el líquido a analizar, de tal modo que la capa porosa 4 está llena o impregnada en gran medida o completamente con líquido a analizar. En las regiones funcionales 5 las sustancias 9 a verificar enlazan específicamente con las moléculas de retención 8 inmovilizadas.

A continuación de esto se lava la capa porosa 4, por ejemplo con agua de máxima pureza o solución reguladora. Las sustancias no ligadas y el líquido a analizar se extraen de este modo de la capa porosa 4. Las sustancias 9 ligadas a verificar pueden verificarse directamente electroquímicamente, como se indica esquemáticamente en la figura 6. Alternativamente pueden aplicarse a la capa porosa 4 moléculas de marcación disueltas en un líquido, que enlazan específicamente con las sustancias a verificar ligadas específicamente, es decir, sólo con sustancias a verificar. Las moléculas de marcación se verifican después electroquímicamente, directa o indirectamente, por ejemplo a través de un ciclaje redox.

Las moléculas de marcación pueden dotarse de etiquetas, por ejemplo con etiquetas de encima ligadas a las moléculas de marcación. En el caso de una verificación electroquímica se transforman por ejemplo en las etiquetas de encima moléculas de sustrato, en especial de un educto a un producto. Sobre la superficie de sensor activa, respectivamente el electrodo, se oxidan o reducen las moléculas de sustrato transformadas (productos), en donde puede medirse una transferencia de carga a través del electrodo o bien una modificación de la carga cerca del electrodo (en especial una corriente o una modificación de la tensión). Si un sensor se estructura con al menos dos electrodos de polaridad contrapuesta (positivo + / negativo -), en uno de los electrodos (+) puede oxidarse el producto para formar un producto oxidado (Ox), y en el otro electrodo (-) puede reducirse de nuevo el producto oxidado para formar un producto reducido (Red).

La cantidad de carga transformada en los electrodos puede medirse en función del tiempo y es una medida para la transformación de educto a producto en la etiqueta de encima y, de este modo, para el enlace específico de la sustancia 9 a verificar en las moléculas de retención 8. Solamente en caso de presencia de la molécula de sustancia 9 a verificar específica de la molécula de retención en el líquido a analizar, se realiza sobre el sensor asociado una transformación de carga en función del tiempo, que se mide.

Como se ha representado en la figura 6 como aumento, el sensor 10 se compone de o comprende para verificar las sustancias 9 a verificar electroquímicas unos electrodos, que pueden estar configurados por ejemplo como electrodos interdigitales. Los electrodos interdigitales pueden estar configurados a modo de peine, con una separación de por ejemplo un micrómetro entre almas adyacentes de dos electrodos y una anchura de las almas de en cada caso por ejemplo un micrómetro. Un sensor 10 puede componerse de dos electrodos interdigitales de tipo peine que engranan entre sí, en donde el sensor 10 presenta un diámetro de por ejemplo 150 micrómetros.

Los electrodos de oro en forma de dedo son en líquidos especialmente inertes químicamente y muy apropiados como electrodos de trabajo para mediciones electroquímicas de corriente y/o tensión. Como métodos de medición se utilizan entre otros amperometría, voltametría, coulometría o espectroscopía de impedancia. Como electrodos de referencia o contraelectrodos pueden usarse también electrodos de oro o electrodos de materiales como por ejemplo platino, plata o plata/cloruro de plata.

Los electrodos de los sensores 10 pueden producirse fotolitográficamente, fácilmente con procesos estándar de la técnica de semiconductores. Como material para el primer portador 2 es muy adecuado el silicio, pero también son apropiados otros materiales como por ejemplo germanio, arseniuro de galio y otros semiconductores así como materiales aislantes como plástico, resina epóxida o placas de circuito impreso. El primer portador 2 puede estar configurado como chip, como se ha representado en la figura 2, en donde por debajo de los electrodos o en una

región específica del chip pueden integrarse circuitos electrónicos para el tratamiento de las señales de corriente-tensión medidas. Los procedimientos habituales en la técnica de semiconductores para la producción del primer portador 2 con los sensores 10, aislantes (por ejemplo dióxido de silicio o fotolaca), circuitos integrados y contactos hacen posible la producción del primer portador 2 con costes reducidos.

- 5 Como segundo portador 4 pueden usarse tiras de prueba comerciales, como las que pueden obtenerse por ejemplo para pruebas de embarazo, pruebas de glucosa y orina así como pruebas de sangre. La capa porosa del segundo portador 4 puede estar producida entre otras cosas con nitrocelulosa, papel o tejido o contener estos materiales.

- 10 El dispositivo puede utilizarse en una celda de circulación o estar integrado en una carcasa. Carcasas especialmente económicas pueden producirse con plástico. Pueden estar previstos dispositivos de refrigeración y/o calefacción para controlar reacciones a través de la temperatura.

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo para verificar sustancias químicas o bioquímicas en líquidos (1) con un primer y un segundo portador (2, 4), en donde una superficie del primer portador (2) comprende una matriz de sensores con varios sensores electroquímicos (3), y en donde el segundo portador presenta una capa porosa (4) con al menos una región funcional (5), en la que están inmovilizadas moléculas de retención (8) que enlazan específicamente, en donde la al menos una región funcional (5) está dispuesta de forma directamente adyacente al menos a una región no funcional (6), y en donde la superficie del primer portador (2) y la capa porosa del segundo portador (4) están mutuamente en contacto directa o indirectamente, a través de un medio líquido, caracterizado porque a la al menos una región funcional (5) y a la al menos una región no funcional (6) están asociados en cada caso varios sensores (10) de la matriz de sensores (3).
2. Dispositivo (1) según la reivindicación 1, caracterizado porque la capa porosa (4) presenta al menos dos regiones funcionales (5) diferentes, distanciadas entre sí espacialmente, en donde en especial se diferencia al menos una región de al menos otra región, en cuanto a sus moléculas de retención (8).
3. Dispositivo (1) según la reivindicación 2, caracterizado porque cada sensor (10) de la matriz de sensores (3) presenta una superficie activa y las superficies activas de los sensores están dispuestas en un primer plano, y superficies de las al menos dos regiones funcionales (5) configuran un segundo plano, que está dispuesto enfrente del primer plano, en donde en cada caso la superficie de una región funcional (5) en el segundo plano es mayor que la suma de las superficies de sensores (10) presentes en el primer plano, que están asociados en cada caso a la región funcional (5).
4. Dispositivo (1) según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque las moléculas de retención (8) están inmovilizadas en el material poroso, distribuidas tridimensionalmente en el espacio.
5. Dispositivo (1) según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque los sensores (10) presentan un perímetro rectangular, en especial cuadrado y/o están dispuestos en forma de una matriz de píxeles, regularmente sobre la superficie del primer portador (2).
6. Dispositivo (1) según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque regiones funcionales (5) distanciadas en forma de un matriz están dispuestas en y/o sobre la capa porosa (4), con un número m de diferentes regiones funcionales (5) con una separación espacial fundamentalmente igual en cada caso mutua.
7. Dispositivo (1) según la reivindicación 6, caracterizado porque la matriz de sensores (3) presenta un número de n sensores (10), que están asociados a regiones funcionales (5), y el número n de sensores (10) asociados a regiones funcionales (5) es x veces el número m de regiones funcionales (5), siendo x mayor que o igual a dos.
8. Dispositivo (1) según la reivindicación 7, caracterizado porque el número m de regiones funcionales (5) es de 8 y el número n de sensores (10) es de 32, y a cada región funcional (5) están asociados 4 sensores (10), o porque el número m de regiones funcionales (5) es de 24 y el número n de sensores (10) de 384, y a cada región funcional (5) están asociados 16 sensores (10), o el número m de regiones funcionales (5) es de 8 a 24 y el número n de sensores (10) es de 32 a 384.
9. Dispositivo (1) según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque las regiones funcionales (5) están configuradas en forma de tiras o barras, en especial barras paralelepípedicas, que se limitan mediante dos superficies de corte fundamentalmente paralelas, distanciadas entre sí, a lo largo de ejes de sección transversal de la capa porosa (4) a través de la capa porosa (4).
10. Dispositivo (1) según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque los sensores (10) están estructurados con electrodos interdigitales y/o están estructurados con electrodos de oro no recubiertos.
11. Dispositivo (1) según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la capa porosa del segundo portador (4) comprende una membrana, en especial de celulosa, nitro-celulosa, papel de lateral-flow o un tejido.
12. Dispositivo (1) según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la capa porosa (4) tiene la forma de una hoja, en especial la forma de una tira de papel.
13. Dispositivo (1) según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque las moléculas de retención (8) comprenden anticuerpos o antígenos, aptámeros, fragmentos de DNA, fragmentos de RNA, o péptidos.
14. Procedimiento para la producción de un dispositivo (1) según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque sobre un primer portador (2), con una matriz de sensores (3) que está estructurada con varios sensores electroquímicos(10), se aplica un segundo portador, en donde el segundo portador comprende al menos

5 una región funcional (5) en o sobre una capa porosa (4), en la que están inmovilizadas moléculas de retención (8) que enlazan específicamente, y en donde la al menos una región funcional (5) se dispone directamente de forma adyacente al menos a una región no funcional (6) en o sobre la capa porosa (4), y en donde mediante la aplicación se asocian a la al menos una región funcional (5) y a la al menos una región no funcional (6) en cada caso varios sensores (10) de la matriz de sensores (3).

10 15. Procedimiento según la reivindicación 14, caracterizado porque la al menos una región funcional (5) se introduce en un primer paso en la capa porosa (4) mediante dispensación, presión y/o moteado, y en un segundo paso, temporalmente subsiguiente, la capa porosa (4) se lleva a unión directa o indirecta con la matriz de sensores (3) del primer portador (2), en especial mediante la colocación del segundo portador sobre el primer portador (2), y al introducir líquido en la capa porosa (4), la al menos una región funcional (5) y la al menos una región no funcional (6), en cada caso con los varios sensores (10) asociados, entran en unión mutua a través del líquido.

15 16. Utilización de un dispositivo (1) según una de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizada porque se aplica un líquido con sustancias a verificar (9) sobre un segundo portador (2), el cual comprende una capa porosa (4) con al menos una región funcional (5), en la que están inmovilizadas moléculas de retención (8) que enlazan específicamente para enlazar con las sustancias a verificar (9), en donde la al menos una región funcional (5) está dispuesta directamente de forma adyacente al menos a una región no funcional (6) en la capa porosa (4), y el líquido es transportado en especial mediante fuerzas capilares, al menos parcialmente, a través de la capa porosa (4), en donde las sustancias a verificar (9) enlazan específicamente con las moléculas de retención (8), y con ayuda de sensores (10) de una matriz de sensores (3) sobre un segundo portador, que están asociados a la al menos una
20 región funcional (5), las sustancias enlazadas (9) se verifican electroquímicamente directa o indirectamente, y en donde los sensores (10) de la matriz de sensores (3) sobre el segundo portador, que están asociados a la al menos una región no funcional (6), verifican que en la región no funcional (6) no se ha enlazado ninguna sustancia a verificar (9).

FIG 1

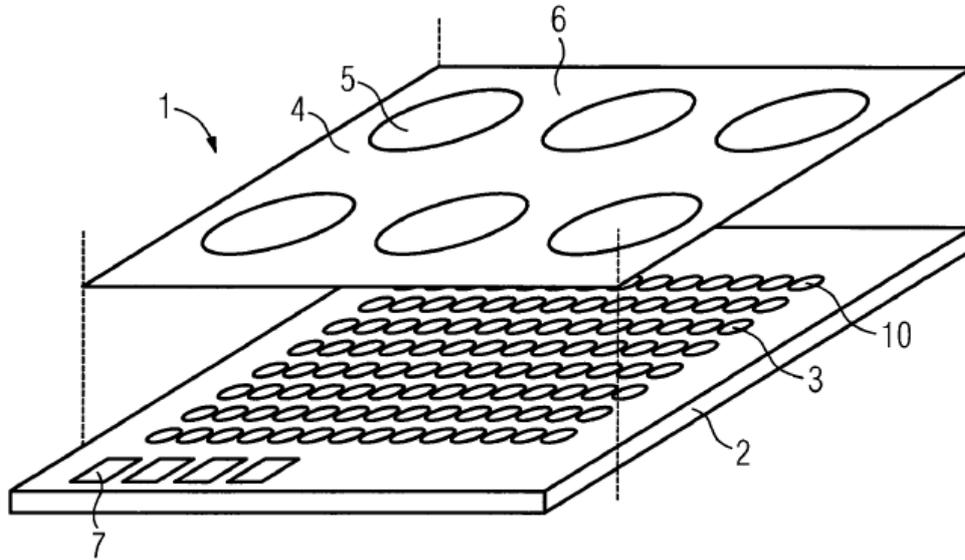


FIG 2

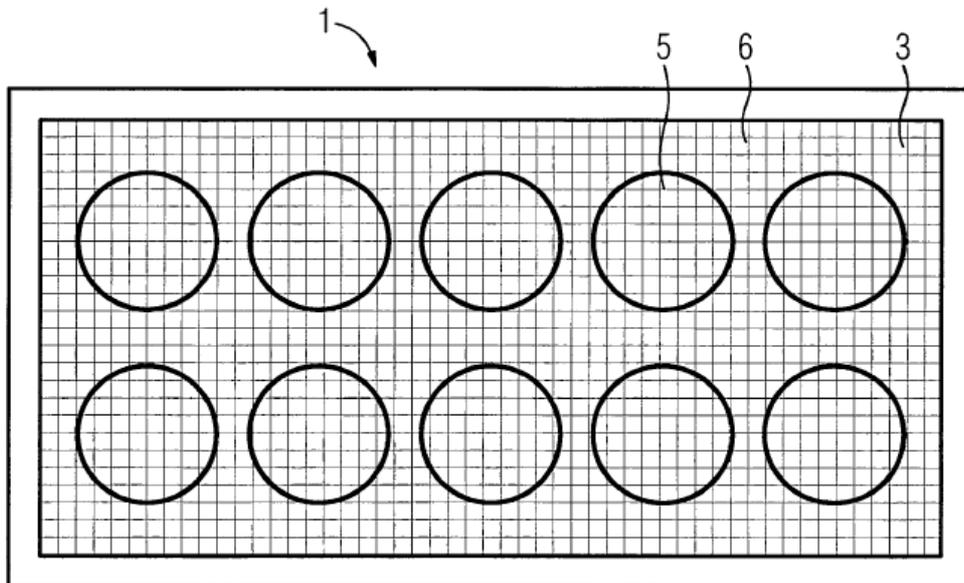


FIG 3

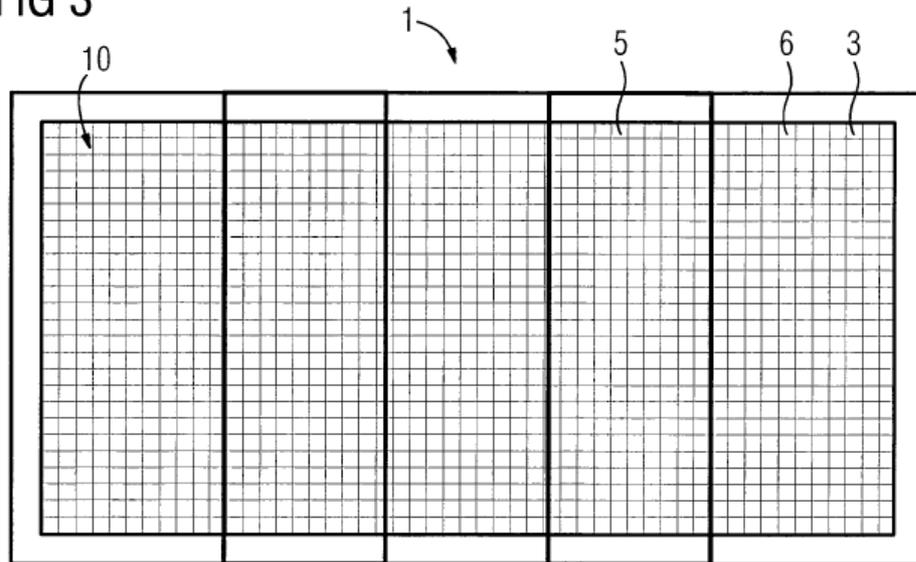


FIG 4

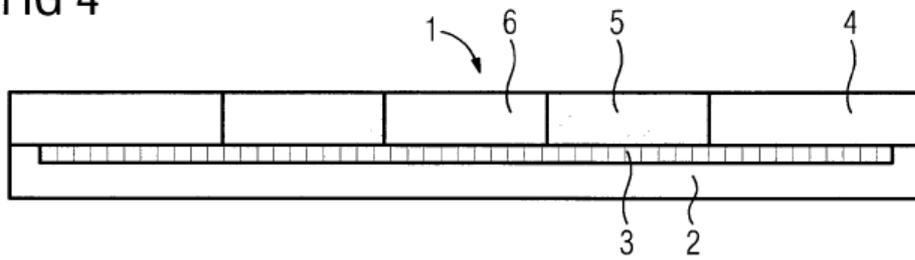


FIG 5

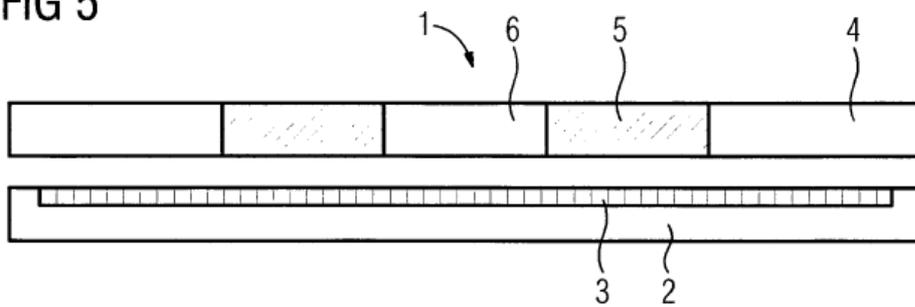


FIG 6

