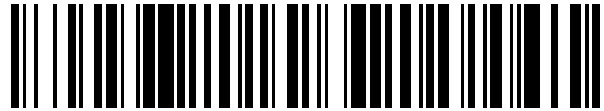


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 549 762**

51 Int. Cl.:

G01N 27/414 (2006.01)

G01N 33/483 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.01.2011** **E 11703922 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.08.2015** **EP 2531845**

54 Título: **Matriz de sensores para medir la actividad neuronal**

30 Prioridad:

03.02.2010 GB 201001743

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

02.11.2015

73 Titular/es:

**DNA ELECTRONICS LTD (100.0%)
Ugli Campus Block C, 56 Wood Lane
London W12 7SB, GB**

72 Inventor/es:

**GEORGIU, PANTELIS;
PRODROKAKIS, THEMISTOKLIS;
CONSTANDINOU, TIMOTHY G y
TOUMAZOU, CHRISTOFER**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 549 762 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

Matriz de sensores para medir la actividad neuronal

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un sistema de sensor, un procedimiento de calibración de un sistema de sensor, y un procedimiento para usar un sistema de sensores para observar la actividad biológica o química.

Antecedentes

10 En la última década, la tendencia inexorable hacia la miniaturización de la tecnología ha facilitado nuevas oportunidades para la integración de microfluidos. Combinado con la microelectrónica moderna, esto ha abierto nuevos paradigmas para las novedosas plataformas de laboratorio en microplaca, la miniaturización de los sistemas analíticos convencionales. Como resultado se ha producido una nueva unidad para fabricar esto usando tecnologías CMOS convencionales debido a los requisitos de superposición cuando se combina con dispositivos microsensores químicos de hoy en día. Estos incluyen la miniaturización de los sensores, la fabricación por lotes, la integración de circuitos de acondicionamiento del procesamiento y de la señal y el coste económico de fabricación.

15 Estas tecnologías facilitadoras han permitido la detección espacio-temporal y la excitación de distintos parámetros físicos y químicos mediante la explotación de dispositivos parasitarios. Por ejemplo, los generadores de imágenes basados en CMOS usando fotodiodos de unión-p parasitarios se han desarrollado en las novedosas plataformas de laboratorio en microplaca para aplicaciones en fluorimetría para medir la actividad y la viabilidad metabólica de las células biológicas. Del mismo modo, los sensores químicos basados en ISFET se están convirtiendo en cada vez más populares debido al hecho de que pueden fabricarse en una tecnología CMOS sin modificar. Estos sensores pueden detectar un pH explotando la pasivación de nitruro de silicio que puede usarse como una membrana de detección. Se ha demostrado cómo una matriz de ISFET puede emplearse para formar un generador de imágenes químicas, adquiriendo un mapa espacio-temporal de los cambios químicos que ocurren en la superficie de la matriz CMOS para las aplicaciones de monitorización de la célula. Explotando las opciones del proceso metálico superior grueso adoptadas para las aplicaciones de RF, las microbobinas también se han aplicado a las plataformas de laboratorio en microplaca. Usadas en una matriz, estas pueden generar un campo magnético espacio-temporal para manipular las células biológicas que se unen en las microperlas.

20 Se ha demostrado que la estimulación magnética del tejido neuronal es posible con la ayuda de corrientes de Foucault. Sin embargo, los problemas con la estimulación eléctrica existente incluyen la invasividad, la falta de biocompatibilidad y la falta de coincidencia de bio-resistencia. Por ejemplo, la estimulación magnética transcraneal se ha usado durante casi 25 años. Y sin embargo, todos los sistemas presentados hasta la fecha hacen uso de unos componentes excesivamente grandes. Además, aún no se ha satisfecho la necesidad de un sistema que pueda combinar un estimulador TM y un esquema de monitorización adecuado para registrar la actividad neuronal antes, durante y después de la estimulación.

30 Los procedimientos conocidos para la medición del ADN y ARN, ya sea para el genotipado, el análisis de la expresión génica o la secuenciación, o el diagnóstico molecular para la identificación de patógenos, incluyen el uso de una tecnología de micromatrices, por lo general, fabricadas sobre un sustrato de vidrio, sobre el que entre uno y varios cientos de miles de diferentes oligonucleótidos "sondas" de ácido nucleico están dispuestos en un formato de matriz, o a través de un enlace químico directo o al sustrato, o mediante la unión a perlas, o por el uso de microcanales para crear unas cámaras individuales para cada tipo de sonda. Como referencia, véase "Highly Parallel Genomic Assays" (Nature Reviews agosto de 2006) y "Exploring the new world of the genome with DNA micromatrices" (Nature Reviews enero de 1999) para un tratamiento adicional de este campo. Ejemplos de las plataformas existentes incluyen el Affymetrix GeneChip, el Illumina BeadChip, y el 454 Genoma Analyzer. Cuando la muestra a analizar y/o los reactivos y los nucleótidos específicos se proporcionan a la micromatriz, se detectan por lo general, unos eventos de hibridación y/o de incorporación de nucleótidos detectados directamente de manera óptica usando unas etiquetas fluorescentes sobre uno de los componentes de la reacción (por ejemplo, sondas, objetivos, o nucleótidos, en función de la aplicación y la plataforma) o indirectamente usando enzimas que generan luz como consecuencia de los eventos de hibridación o de inserción de nucleótidos (por ejemplo, la pirosecuenciación). En algunas plataformas de micromatrices (por ejemplo, la Osmetech eSensor), se usan etiquetas electroquímicas y se detectan señales electroquímicas para inferir en los eventos de hibridación o de incorporación de nucleótidos. Además, se ha informado en la patente del Reino Unido GB2389424 que puede usarse la detección electroquímica libre de etiqueta de la que surge el pH a partir de los eventos de incorporación del nucleótido para secuenciar el ácido nucleico y/o el genotipo del ácido nucleico.

Las siguientes referencias proporcionan antecedentes a las estructuras de matriz de sensores, a las propiedades y a los procedimientos de fabricación:

55 J. Bausells y J. Carrabina y A. Errachid y A. Merlos. Ion-sensitive field-effect transistors fabricated in a commercial CMOS technology. Sensors and Actuators B: Chemical, 57(1-3):56-62, 1999.

Georgiou, P. y Toumazou, C. An adaptive ISFET chemical imager chip. Circuits and Systems, 2008. ISCAS 2008. Simposio Internacional del IEEE en: 2078--2081, 2008.

Georgiou, P. y Toumazou, C. CMOS-based programmable gate ISFET. Electronics Letters, 44: 1289, 2008.

5 Pantelis Georgiou y Christofer Toumazou. ISFET characteristics in CMOS and their application to weak inversion operation. Sensors and Actuators B: Chemical, In Press, Corrected Proof:-, 2009.

J. Janata, y col. Solid State Chem. Sensors. Academic Press, 1985.

Lee, H. y Liu, Y. y Westervelt, R.M. y Ham, D. IC/microfluidic hybrid system for magnetic manipulation of biological cells. IEEE Journal of Solid-State Circuits, 41(6):1471--1480, 2006.

10 N. Nelson, D. Sander, M. Dandin, S. B. Prakash, A. Sarje and P. Abshire. Handheld Fluorometers for Lab-on-a-Chip Applications. IEEE Trans. Biomedical Circuits and Systems, 3(2):97--107, 2009.

Prodromakis, T. y Georgiou, P. y Constandinou, TG y Michelakis, K. y Toumazou, C. Batch encapsulation technique for CMOS based chemical sensors. IEEE Biomedical Circuits and Systems Conference, 2008. BioCAS 2008, páginas 321-324, 2008.

15 T. Prodromakis, K. Michelakis, T. Zoumpoulidis, R. Dekker y C. Toumazou. Biocompatible Encapsulation of CMOS based Chemical Sensors. IEEE Sensors, 2009.

El documento US 2003/012693 desvela unas microplacas que incluyen uno o más mecanismos de manipulación de partículas, o elementos de transducción de fuerza, proporcionados en unas localizaciones específicas para manipular y localizar unas partículas proximales a la superficie del sustrato.

Sumario

20 Los presentes inventores han apreciado que la combinación de la manipulación/estimulación magnética, la detección óptica y la detección química en un solo elemento de imagen proporciona una plataforma de sensor que puede mejorar la observación de algunas propiedades para permitir nuevas aplicaciones. Por ejemplo, algunas propiedades de una reacción o un material biológico pueden detectarse ópticamente, pero no químicamente, y viceversa para otras propiedades. En algunos casos, es solo cuando estas propiedades se conocen juntas que uno
25 puede sacar conclusiones sobre el estado de la reacción o el material biológico.

Pueden realizarse ventajas y aplicaciones adicionales disponiendo estos nuevos elementos de imagen en una matriz. Por ejemplo, esto permite que se considere la totalidad de una muestra o de una reacción y las partes discretas se comparen de manera espacio-temporal.

30 La invención proporciona un sistema de sensores y un procedimiento como se establece en las reivindicaciones independientes adjuntas, 1 y 8.

El sistema de sensores puede comprender uno o más canales de guía para guiar una muestra a analizarse a través de las respectivas superficies de detección de los elementos de sensor, en el que el o cada canal de guía está integrado en el sustrato. El sistema de sensores puede ser adecuado para monitorizar o realizar los ensayos en una muestra biológica y/o bioquímica. Otros aspectos preferidos de la invención se exponen en las reivindicaciones
35 dependientes adjuntas.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es una microfotografía de una realización de, (a) el sistema de sensores y (b) un elemento de imagen de sensor;

40 La figura 2 es una ilustración de la arquitectura del sistema de una realización;

La figura 3 es un esquema de un circuito de control de elemento de imagen;

La figura 4 es un diagrama de temporización de las señales de entrada y de salida;

La figura 5 es una ilustración de un sistema que tiene un canal de 8 carriles de microfluidos para pasar una muestra a través de una matriz de sensores;

45 La figura 6 es una ilustración de un sistema que tiene un canal de meandro de microfluidos para pasar una muestra a través de una matriz de sensores.

Descripción detallada

Se muestra en la figura 1 y se describe a continuación una realización preferida usando un sistema de sensores de 8 elementos de imagen x 8 elementos de imagen. La parte a mano izquierda de la figura 1 indica un sistema que tiene una matriz 7 de elementos de imagen de 8x8 y unos dispositivos para controlar y adquirir datos a partir de la matriz
50 de elementos de imágenes, tales como: un banco 8 de RAM (memoria intermedia de balanceo), unas memorias 10 intermedias de columna CDS, una interfaz 11 de conversión de datos, una interfaz 12 frontal sensorial (para la amplificación), y un controlador 9 inductor.

La realización proporciona una plataforma versátil para aplicaciones que necesitan la manipulación magnética de muestras biológicas, tales como el movimiento de células, la hibridación de ADN, la extensión y la secuenciación, así como de formación de imágenes opto-químicas de las reacciones químicas en curso. Fabricado en un procedimiento CMOS de 0,35 mm comercialmente disponible, el sistema se escala para formar una matriz de 8x8 capaz de calibrar un sensor no ideal que incluye la desviación, el ruido (estático) espacial y el desajuste de ganancia. Además, el sistema proporciona un generador de campo espacial programable para la manipulación magnética. El sistema puede usarse intrínsecamente tanto para la formación de imágenes ópticas como para la detección del pH.

Un elemento de imagen de sensor se muestra en la parte a mano derecha de la figura 1. Como puede verse el elemento de imagen de sensor tiene un fotodiodo 2 adyacente a un ISFET 4, ambos rodeados por un inductor 3. Durante el funcionamiento, las sustancias químicas o biológicas pueden llevarse a las proximidades de la superficie del sensor, con lo que puede usarse una combinación de una estimulación magnética y los datos químicos y/o ópticos para determinar una propiedad de la sustancia.

La arquitectura del sistema de alto nivel se muestra en la figura 2. La matriz combina tres subsistemas para la adquisición sensorial (es decir, una formación de imágenes óptica y química) y la generación del estímulo magnético. El sistema usa una interfaz de programación/calibración común basada en el protocolo SPI para cargar datos en serie. Estos datos incluyen unas palabras de 8x8x10 bits para la calibración química / óptica, 64 palabras de 10 bits para definir el patrón temporal magnético, y una palabra adicional para controlar las ganancias del amplificador. Los circuitos de referencia principales también son comunes a los elementos de imagen, proporcionando una corriente de polarización generada de 1µA PTAT, una referencia de tensión de brecha de bandas de 1,21 V, y unas señales de restablecimiento de encendido para los distintos circuitos. Las salidas se muestrean usando un único convertidor analógico a digital de aproximación sucesiva de 10-bit intercalando los datos de imágenes óptica y química.

En una realización más de un sensor electroquímico o más de uno óptico está integrado en un solo elemento de imagen de sensor, estando los sensores diseñados preferentemente para detectar diferentes propiedades o para que tengan diferentes sensibilidades. Por ejemplo, puede haber varios sensores ópticos, cada uno diseñado para detectar una longitud de onda diferente.

Generador de patrones magnético

El generador de patrón magnético puede proporcionarse por un memoria intermedia de balanceo de 64x10 bits que procesa una instrucción de 10 bits en el controlador magnético. La instrucción de 10 bits se define de la siguiente manera: los bits 9-7 = la coordenada x, los bits 6-4 = la coordenada y, el bit 3 = la polaridad y los bits 2-0 = la magnitud. La corriente se genera primero usando un convertidor de 3 bits digital a analógico (basado en un espejo de corriente ponderado en binario) y, a continuación, la polaridad puede invertirse usando una configuración de puente en H. A continuación, los bits de coordenadas se usan para controlar dos demultiplexores (para X e Y) cuyas corrientes dirigen el estímulo generado hacia el elemento de imagen activo. La corriente pasa a través de una microbobina que genera un campo magnético en el elemento de imagen, la fuerza disminuye rápidamente en los elementos de imagen además del elemento de imagen activo.

La manipulación magnética de unas sustancias de fluidos (por ejemplo, biológicas) puede lograrse uniendo microperlas magnéticas a componentes de la sustancia y, a continuación, generar una fuerza magnética lo suficientemente grande como para atraer las microperlas hacia un elemento de imagen. Esta fuerza magnética de atrapamiento [6] está dada por:

$$F_m = \frac{VX}{\mu_0} \cdot \nabla |B|^2 \tag{1}$$

en la que, V y X son el volumen y la susceptibilidad magnética de la perla magnética, μ_0 es la permeabilidad magnética en el vacío y B es la magnitud del campo magnético. La microbobina magnética demuestra una distribución del campo magnético, dictada por la magnitud y la dirección de la polarización de corriente de acuerdo con la ley de Biot-Savart:

$$B = \int \frac{\mu_0 I dl \times r}{4\pi r^3} \tag{2}$$

en la que I es la corriente de polarización, dl es un vector, cuya magnitud es la longitud de los devanados de la microbobina, y cuya dirección es la misma que I, y γ es el vector de unidad de desplazamiento.

Matriz de sensores

Un generador de temporización basado en una máquina de estado define primero las diferentes fases y señales de control de matriz (por ejemplo, las señales de selección del elemento de imagen x e y) para sondear a través de la matriz de elementos de imagen sensorial. Los sensores de elementos de imagen químicos se muestrean durante la

segunda mitad del período de reloj (durante la fase un elemento de imagen está activo) y los sensores del elemento de imagen ópticos se muestran durante la primera mitad del período de reloj (con un período de latencia debido al muestreo doble correlacionado). El esquema del elemento de imagen integrado se muestra en la figura 2.

Sensor electroquímico

- 5 El sensor electroquímico puede ser cualquier sensor capaz de medir la propiedad eléctrica o química. En la presente realización se basa en un sensor químico PG-ISFET (un transistor de efecto de campo sensible de ion de puertas programables) que se polariza usando una interfaz de memoria intermedia de ganancia unitaria a nivel de elemento de imagen. Las salidas se conmutan (es decir, se seleccionan las filas) en un bú de columna compartida al nivel de elemento de imagen y se selecciona una columna de salida de elemento en el encabezado de la columna. A continuación, la señal de salida se regula a través de un amplificador de ganancia programable (PGA) y se pasa al convertidor para la adquisición de datos.

La tensión V_{FG} de puerta flotante del PG-ISFET se establece mediante una suma ponderada de las tensiones aplicadas al electrodo de referencia (normalmente de Ag/AgCl), a través de V'_G , y la puerta de control, a través de V_{CG} :

$$V_{FG} = \frac{V_{G'} \cdot C_{pass} + V_{CG} \cdot C_{CG} + V_S \cdot C_{GS} + V_D \cdot C_{GD}}{C_T} \quad (3)$$

15 Cuando el ISFET está polarizado, los iones en solución se unen a la pasivación provocando una acumulación de carga que a su vez modula la tensión de puerta flotante del dispositivo creando una dependencia de pH de acuerdo con:

$$V_{G'} = V_{ref} - V_{to} - \gamma + \frac{2.3\alpha kT}{q} \text{pH} \quad (4)$$

- 20 Por la que, V_{to} son los efectos no ideales de carga atrapada, V_{ref} es la tensión de polarización del electrodo de referencia, $kT/q = U_t$ es la tensión térmica del dispositivo (donde k es la constante de Boltzmann, T es la temperatura, y q es la magnitud de la carga eléctrica en un electrón), γ es una agrupación de potenciales químicos independientes del pH y α es un número que oscila entre 0-1, que describe la reducción de la sensibilidad a partir de la respuesta de Nernst, normalmente 59 mV/pH a 25 °C.

- 25 La entrada de puerta programable se alimenta desde un DAC para proporcionar una polarización de puerta variable. La polarización se carga en la inicialización de una tabla de búsqueda basada en RAM. Esto se implementa para calibrar y eliminar los sensores no ideales que incluyen una desviación, un ruido (estático) espacial y un desajuste de ganancia.

- 30 Los valores de la tabla de consulta iniciales pueden determinarse leyendo la salida del sensor de cada sensor en un estado inicial. El estado inicial puede ser, por ejemplo, una sustancia de control proporcionada a la matriz o la ausencia de una muestra en la matriz. A continuación, las salidas de los sensores se comparan con un parámetro global, tal como una tensión de salida normalizada o algún estado deseado. A continuación, se estima la tensión de polarización de puerta (por ejemplo, usando la ecuación 3) para establecer la tensión de salida normalizada o el estado deseado. Esta medición y el cálculo pueden realizarse de forma iterativa hasta que se logre el resultado.

- 35 Un estado deseado puede ser que todas las tensiones de salida sean las mismas en ausencia de una muestra. Otro estado deseado puede ser que se establezca un patrón de salida predeterminado. Otro estado deseado más puede ser que se minimicen las no idealidades de los sensores.

Antes de la lectura de la matriz de sensores, los valores de consulta se cargan para calibrar cada sensor de manera que las tensiones de salida del sensor sean más útiles.

40 Sensor óptico

- El sensor óptico puede implementar una arquitectura de sensor de elemento de imagen activa (APS) utilizando un elemento de imagen de 3 transistores convencional (x-reinicio, memoria intermedia de drenaje común y y-conmutación). El circuito 5 de APS controla el fotodiodo 2 (véase la figura 1). El fotodiodo 2 se basa en una unión-pn parasitaria de pozo-n/substrato-p de dimensiones $16 \mu\text{m} \times 36 \mu\text{m}$. Las líneas de bus de columna compartidas se introducen en la memoria intermedia de muestreo doble correlacionado (CDS) a nivel de columna y la señal diferencial se conmuta (es decir, la columna seleccionada) en un amplificador diferencial a nivel de matriz (también un PGA para ajustar la sensibilidad del generador de imágenes).

Plataforma fabricada

La plataforma de sensores puede diseñarse y fabricarse en una tecnología CMOS de 0,35 mm disponible comercialmente. Usando un procedimiento de cuatro capas de metal, puede implementarse una microbobina espiral que tenga 5 vueltas para conseguir un perfil de campo magnético superior para el esquema de polarización dado.

- 5 Un anillo de almohadillas divididas puede implementarse para lograr una fuente de alimentación aislada para las secciones analógica y digital. Esto permite la manipulación plana de la superficie de detección, lo que permite el consiguiente post-procesamiento para encapsular el sistema.

10 Los canales microfluidos pueden proporcionarse a la matriz de sensores con el fin de poner la muestra de interés en contacto con los elementos de imagen del sensor en un patrón predefinido. El patrón de los canales dependerá del tipo de aplicación. El canal puede fabricarse usando matrices de microfluidos basadas en unas membranas de polidimetilsiloxano (PDMS), que están unidas a un portaobjetos de vidrio de microscopio con capilares de entrada y salida a través de un tratamiento de plasma de O_2 . Los canales pueden modelarse de manera fotolitográfica en una capa (SU-8) de fotorresistencia de espesor negativo de 100 μm , que se recubre por centrifugación en una oblea de Si y sirve esencialmente como el molde para el moldeo PDMS. Puede usarse otro material fotocurable para los canales de patrón en la matriz.

15 Como alternativa, podrían usarse los canales perforados o grabados en un colector sellado a la superficie de la microplaca.

20 La muestra puede estar sujeta a reactivos/tratamientos antes de entrar en el canal o puede encontrar reactivos/tratamientos a medida que pasa a través de la matriz de sensores. La figura 6 ilustra un canal de meandro que permite que una sola muestra fluya más allá de todos los elementos de imagen de la matriz. La figura 5 ilustra un canal de 8 carriles que permite a ocho muestras fluir más allá de las columnas de los elementos de imagen en la matriz. La muestra puede manipularse y medirse en los diferentes elementos de imagen y en momentos diferentes para generar una comprensión espacio-temporal de la reacción.

Resultados simulados

- 25 El circuito se simuló usando el simulador de espectro de cadencia (5.1.41sr1) con los modelos BSIM3 suministrados por fundición.

Simulación de circuito de transitorio

30 Los resultados de la simulación de transitorios que ilustran el controlador de temporización de la matriz de sensores, las salidas del generador de imágenes (es decir, química y óptica) y el momento de adquisición se muestran en la figura 4. Esta simulación muestra la temporización y el ciclo de adquisición sensorial del elemento (8,8) de imagen abajo a la derecha a través de elemento (1,1) hasta el elemento (3,1) de imagen. Por debajo de esto se muestra la salida del bus ISFET antes y después de la fase de PGA para dos filas de diferentes respuestas de pH sinusoidales simuladas. Se usa una tensión de electrodo de referencia de 3,3 V y una tensión de puerta de control de 1 V para programar los elementos de imagen para que estén en el intervalo medio del suministro para maximizar la resolución A/D. En la figura 4, pueden verse la salida del bus CDS (líneas de reinicio y de muestra) y la salida de la matriz después de la etapa PGA.

Simulación electromagnética

40 Considérese la distribución del campo magnético en la capa de pasivación del Si_3N_4 por encima de la matriz 8x8, cuando la microbobina del elemento (1,1) de imagen está polarizada con $I = 20$ mA. Aunque existe un acoplamiento entre los elementos de imagen adyacentes, una sola excitación no es lo suficientemente fuerte como para distraer el movimiento de las microperlas. Específicamente, en las proximidades del elemento de imagen polarizado, la fuerza del campo magnético es aproximadamente de 17 G que decae a 1 G en los elementos de imagen vecinos y a 1 mG en la esquina más alejada de la matriz.

Medición de la actividad neuronal

- 45 Mientras que los procedimientos conocidos de estimulación magnética transcraneal (TMS) utilizan matrices de grandes bobinas para estimular y medir la actividad neuronal, la realización descrita a continuación puede proporcionar la detección de la actividad neuronal a una escala mucho menor.

50 Una matriz de sensores puede usarse para medir y observar la actividad neuronal en el tejido neuronal. En particular, los potenciales de acción neuronales pueden detectarse a través del acoplamiento electrostático entre una neurona y la puerta flotante del ISFET. Esto permite a las aplicaciones tales como determinar si una neurona está activa. Por ejemplo, las neuronas pueden desarrollarse en una matriz de sensores. La salida electroquímica a partir de un elemento de imagen puede compararse con la salida del sensor óptico. Si la existencia de una neurona puede confirmarse ópticamente pero no detectarse químicamente, se podría concluir que la neurona está "muerta".

Usando la tecnología CMOS, que explota las opciones de un proceso metálico superior grueso adoptadas para aplicaciones de RF, las microbobinas pueden proporcionarse en las plataformas de sensores. Usadas en una matriz, estas microbobinas pueden generar un campo magnético espacio-temporal para facilitar la estimulación neuronal a una micro escala.

- 5 Las realizaciones adecuadas de la matriz de sensores descrita anteriormente pueden usarse para proporcionar una interfaz sin contacto al tejido neuronal usando la estimulación magnética combinada con la detección electroquímica y óptica.

La estimulación magnética de tejido neuronal se logra empleando un campo lo suficientemente grande de las microbobinas para evocar los potenciales de acción en las neuronas. La polarización apropiada de las microbobinas provocará un campo magnético variable que a su vez provocará que circulen las corrientes de Foucault dentro de la sustancia unida a las bobinas. La fuerza de estas corrientes se calcula, normalmente, a través de la pérdida detectada, que bajo los supuestos de un material uniforme y una distribución del campo magnético puede expresarse como:

$$P = \frac{\pi^2 B^2 d^2 f^2}{\epsilon_0 D} \quad (5)$$

- 15 en la que d es el espesor del medio en el que se despliegan las corrientes de Foucault, f es la frecuencia del cambio de campo magnético, ρ es la resistividad, y D es la densidad del material.

El ISFET puede usarse en esta aplicación como un sensor de neuroquímica. Cuando el ISFET está polarizado, los potenciales de acción evocados a partir del tejido neuronal en la superficie provocan un cambio en la distribución de carga, que a su vez modula la tensión de puerta flotante del dispositivo de creación de acuerdo con:

$$V_G' = V_{ref} - V_{tc} - V_{neuro} \quad (6)$$

Por la que V_{tc} son los efectos no ideales de la carga atrapada, V_{ref} es la tensión de polarización del electrodo de referencia y V_{neuro} es la contribución del potencial de acción evocado.

Simulación electromagnética

25 Un beneficio adicional de la matriz viene con las aplicaciones que necesitan el uso combinado de elementos inductivos con algoritmos de formación de haz para alcanzar la múltiple estimulación de las neuronas o las neuronas individuales que existen en las regiones más profundas del cerebro.

Las realizaciones de un sistema de detección neuronal pueden adaptar un campo magnético variable en el tiempo programando las polarizaciones de elementos de imagen individuales como una secuencia de pulsos de corriente de diversas amplitudes y duración del pulso. En función de la distribución del campo magnético, una serie de corrientes de Foucault se distribuirán dentro del tejido neuronal que está en contacto directo con la superficie de la plataforma. Basándose en la fuerza de estas corrientes puede producirse (ecuación 2) la activación de las neuronas, lo que dará como resultado la liberación de iones (por ejemplo, neurotransmisores) que serán detectados posteriormente por los ISFET. Existe, por lo tanto, un potencial para usar esta plataforma con aplicaciones de división cerebrales, en las que se necesitan intensidades de campo más pequeñas.

35 Cuando se compara con la estimulación eléctrica tradicional, este procedimiento proporciona ciertas ventajas tales como la no invasividad, la biocompatibilidad mejorada y la coincidencia de bio-resistencia. La falta de una interfase metal-electrolito, que a menudo posee retos tales como la modificación de la superficie del electrodo, la corrosión y la contaminación biológica se alivia, dando como resultado una robustez mejorada y una estabilidad del sistema. Los avances recientes en la estimulación magnética transcraneal (TMS) utilizan matrices de bobinas, que ofrecen beneficios adicionales espacio-temporales, además de la estimulación magnética focalizada.

Será evidente para los expertos en la materia que el sensor y la matriz pueden modificarse más allá de lo que se ha descrito anteriormente a modo de ejemplo. Por ejemplo, la matriz puede extenderse en una dimensión o dos y contener tantos elementos de imagen de sensor como se desee para la aplicación. Puede emplearse un sensor electroquímico diferente de un ISFET, tal como una tecnología capacitiva, potenciométrica, amperométrica, quimicoresistiva u otras a medida que desarrollan. Del mismo modo, pueden usarse diferentes sensores ópticos. Preferentemente, los sensores son de estado sólido y capaces de integrarse en una microplaca semiconductor. Además, pueden incluirse un elemento resistivo u otros tipos de elementos de calentamiento dentro de la matriz, así como unos sensores de temperatura proporcionados por diodos, resistencias o circuitos sensibles a la temperatura, para aplicaciones que necesitan un control térmico o de calentamiento.

50

Medición y análisis y secuenciación del ácido nucleico

5 Los inventores han apreciado que los procedimientos previos basados en matrices para el análisis de ácidos nucleicos son de laboratorio intensivo lo que requiere personal calificado y etapas excesivas para preparar y procesar la muestra. Estos procedimientos también sufren errores de lectura tal como los resultados de falsos positivos y falsos negativos.

10 La ventaja de una matriz que combina varios sensores a través de las técnicas de micromatrices existentes es la combinación de la capacidad eléctrica, óptica y electromagnética para proporcionar flexibilidad y una plataforma universal para múltiples aplicaciones, que incluyen múltiples matrices multianálisis combinando uno o más de entre ADN, ARN, proteínas, enzimas o la detección de compuesto químico, todo lo cual puede detectarse óptica o electroquímicamente, o por cambios en la frecuencia de resonancia del ADN unido a una perla magnética a la temperatura. La capacidad para estimular de manera magnética unas localizaciones o regiones específicas de la matriz proporciona la capacidad adicional para mover los reactivos o el objetivo que se unen a las perlas, que es un avance significativo de automatización y facilidad de uso y que permite etapas de ensayos que normalmente tendrían que realizarse fuera de línea antes de la introducción a la matriz, para pasar a la microplaca. Ejemplos de tales etapas de ensayo incluyen la mezcla, la captura de la perla durante el lavado, y el movimiento selectivo de ciertos reactivos dentro de la matriz. La capacidad de automatizar de esta manera hace de esto una plataforma adecuada para su uso fuera de un laboratorio, eliminando potencialmente la necesidad de la preparación engorrosa de la muestra fuera de la microplaca, la extracción de ácidos nucleicos y las etapas de amplificación.

20 Un beneficio adicional es el aumento del potencial de señal a ruido proporcionado. Por ejemplo, la capacidad de realizar mediciones ortogonales en un solo objetivo usando tanto las señales fluorescentes como las electroquímicas. Además, las señales ópticas y las electroquímicas están correlacionadas, y se usan para reducir la tasa de falsos positivos o falsos negativos si no hay una buena correlación entre las dos señales. Otra forma de reducir los errores de detección en un ensayo realizado en la matriz descrita en el presente documento es el uso de los fotodiodos como una forma de control de calidad en un ensayo electroquímico, y descartar los resultados de los sensores electroquímicos en la matriz en la que no hay, por ejemplo, una mezcla no uniforme de muestra, las burbujas, la obstrucción de los microcanales o de las cámaras de reacción, la desalineación, u otras condiciones de ensayo no ideales que puedan observarse ópticamente. Además, esto puede observarse ópticamente en los ensayos en los que se necesita la distribución de reactivo uniforme o una "densidad de empaquetamiento" uniforme de perlas.

30 La especificación de diseño de una realización preferida de la plataforma del sensor se proporciona en la Tabla 1.

Tabla 1. Especificaciones del sensor.

Tecnología, tensión de alimentación	0,35 μm 2P4M CMOS, 3,3 V
Detección óptica	
Área de detección, factor de llenado	576 μm , 2,56 %
Corriente de oscuridad óptica	2,4 fA
Tasa de tramas	25-200 FPS
Fotocorriente (a 1,5 W/m ²)	375 pA (capacidad de respuesta de 0,4 A/W)
Detección química	
Área de detección, factor de llenado	2500 μm , 11,1 %
Resolución de percepción, intervalo	0,01pH, 2-12 pH
Velocidad de trama	< 25 FPS
Intervalo de calibración-Vt	± 6 V (10 bit de ajuste)
Excitación magnética	
Vueltas de bobina (M1 to M4)	5
Inductancia equivalente	111,4 nH
Memoria de instrucción	64 x 10-bit
Periodo de instrumentación mínimo	150 μs
Corriente de excitación máxima	27 mA†

ES 2 549 762 T3

(continuación)

Excitación magnética	
Densidad de flujo magnético máxima	1,5 mT
Dimensiones de matriz	2895 μm x 2155 μm
Cuenta de dispositivo de sistema	57.784
Tamaño de la matriz	8 x 8 elementos de imágenes
ADC res., tiempo de conversión	10-bit, 10 μs
†Limitado por la densidad de corriente del metal (1 mA/ μm)	

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un sistema de sensores que comprende un sustrato e, integrado en el sustrato, un elemento de sensor, comprendiendo el elemento de sensor uno o más inductores (3), uno o más sensores (4) electroquímicos, y uno o más sensores (2) ópticos, comprendiendo además el sistema de sensores un controlador (9) configurado, durante el funcionamiento, para accionar el uno o más inductores (3) y para correlacionar las salidas de los sensores (2, 4) ópticos y electroquímicos para reducir la tasa de falsos positivos o falsos negativos, y con el fin de proporcionar un resultado de elemento de sensor.
- 10 2. Un sistema de sensores de acuerdo con la reivindicación 1 y que comprende una matriz (7) de dichos elementos de sensor, estando configurado dicho controlador (9), durante el funcionamiento, para accionar por separado el uno o más inductores (3) y para correlacionar los sensores ópticos y electroquímicos de cada elemento de sensor.
3. Un sistema de sensores de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que al menos uno de los elementos de sensor está fabricado usando un procedimiento CMOS.
- 15 4. Un sistema de sensores de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en el que el uno o más inductores (3) son microbobinas.
5. Un sistema de sensores de acuerdo con la reivindicación 4, en el que los sensores del o de cada elemento de sensor están localizados sustancialmente dentro de la o de cada microbobina inductora asociada.
6. Un sistema de sensores de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que comprende además una estructura que define unos canales dispuestos para controlar el flujo de los medios a través de los elementos de sensor.
- 20 7. Un sistema de sensores de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende además una estructura que define unos pozos en la parte superior de los elementos de sensor para separación de grupos de medios.
- 25 8. Un procedimiento de observación de la actividad biológica o química y que comprende proporcionar una muestra a observar en o adyacente a un sistema de sensores de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, y, para el o cada elemento de sensor, influir en la muestra usando el uno o más inductores y correlacionar la salida del sensor electroquímico con la salida del sensor óptico para reducir la tasa de falsos positivos o falsos negativos y para determinar una o más propiedades de la muestra.
9. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que dicha muestra es un tejido neuronal y la actividad es una actividad neuronal, correspondiendo la salida del sensor electroquímico a unos iones liberados de las neuronas, lo que corresponde preferentemente a unos neurotransmisores liberados.
- 30 10. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 9, en el que el o cada inductor (3) proporciona la estimulación de una o más neuronas.
11. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 9 o 10, en el que una o más neuronas son el objetivo de un haz que se forma usando una pluralidad de inductores (3).
- 35 12. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la actividad es una reacción química y la salida del sensor electroquímico corresponde a los intermediarios de reacción.
13. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la actividad corresponde a la inserción de uno o más nucleótidos en el extremo de una cadena de nucleótidos.
14. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 13, que comprende además manipular la muestra usando el uno o más inductores (3).
- 40 15. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 13, que comprende además estimular los medios usando el uno o más inductores.
- 45 16. Un procedimiento de calibración de un sistema de sensores de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende leer una pluralidad de valores de calibración de una memoria, usando al menos un valor de calibración por elemento de sensor para modificar una propiedad de cada elemento de sensor, de tal manera que las salidas del elemento de sensor del sistema de sensores logran un estado deseado.

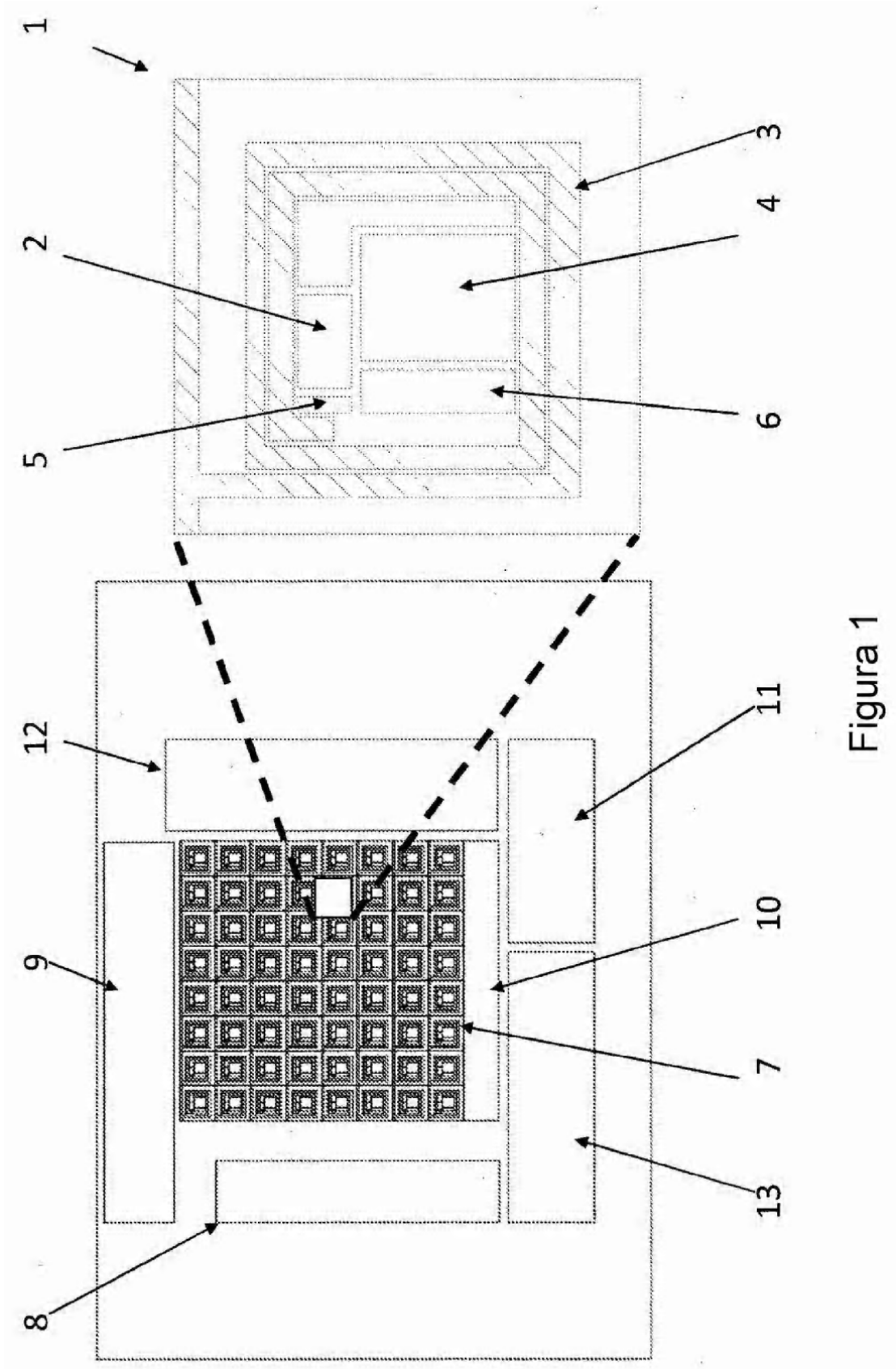


Figura 1

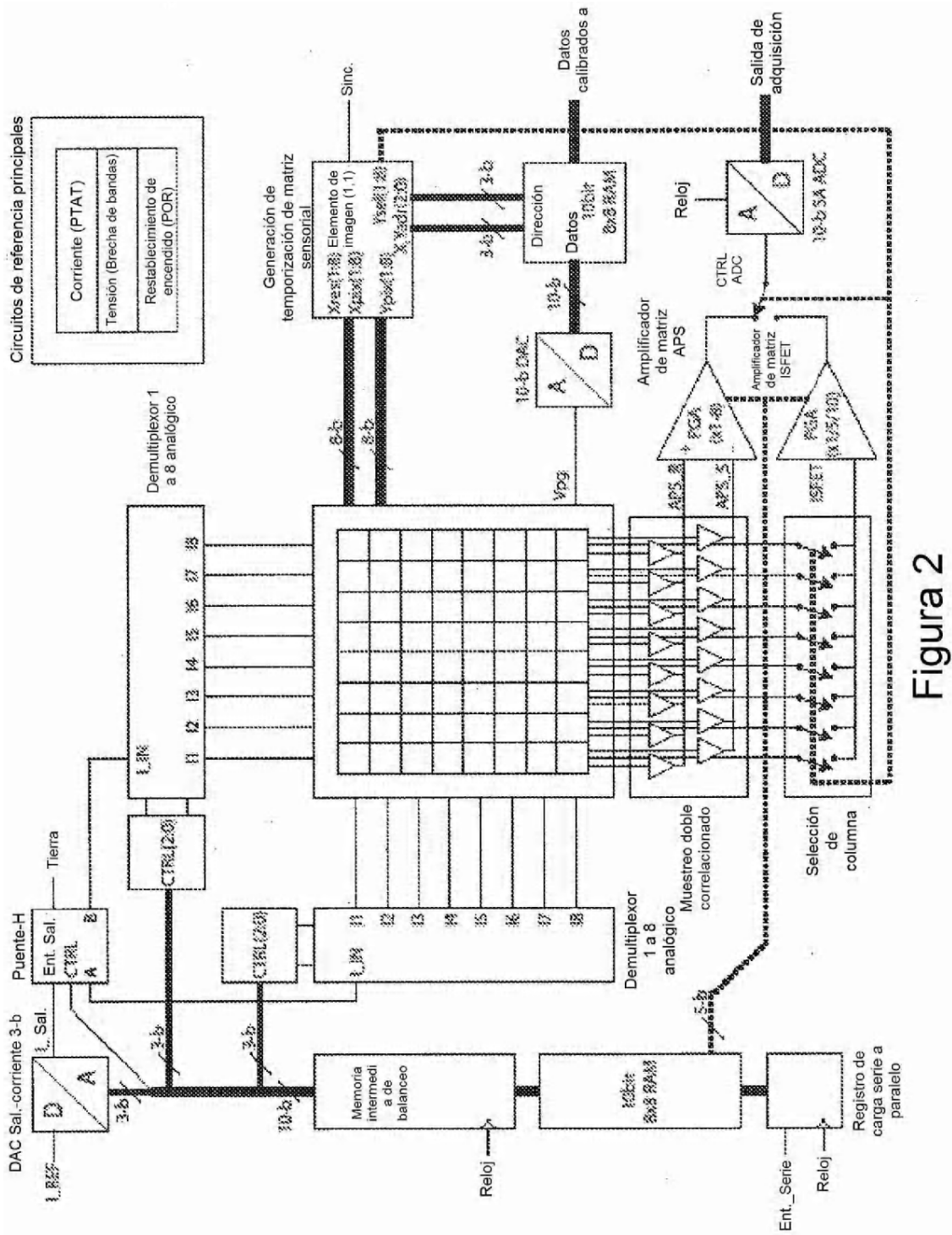


Figura 2

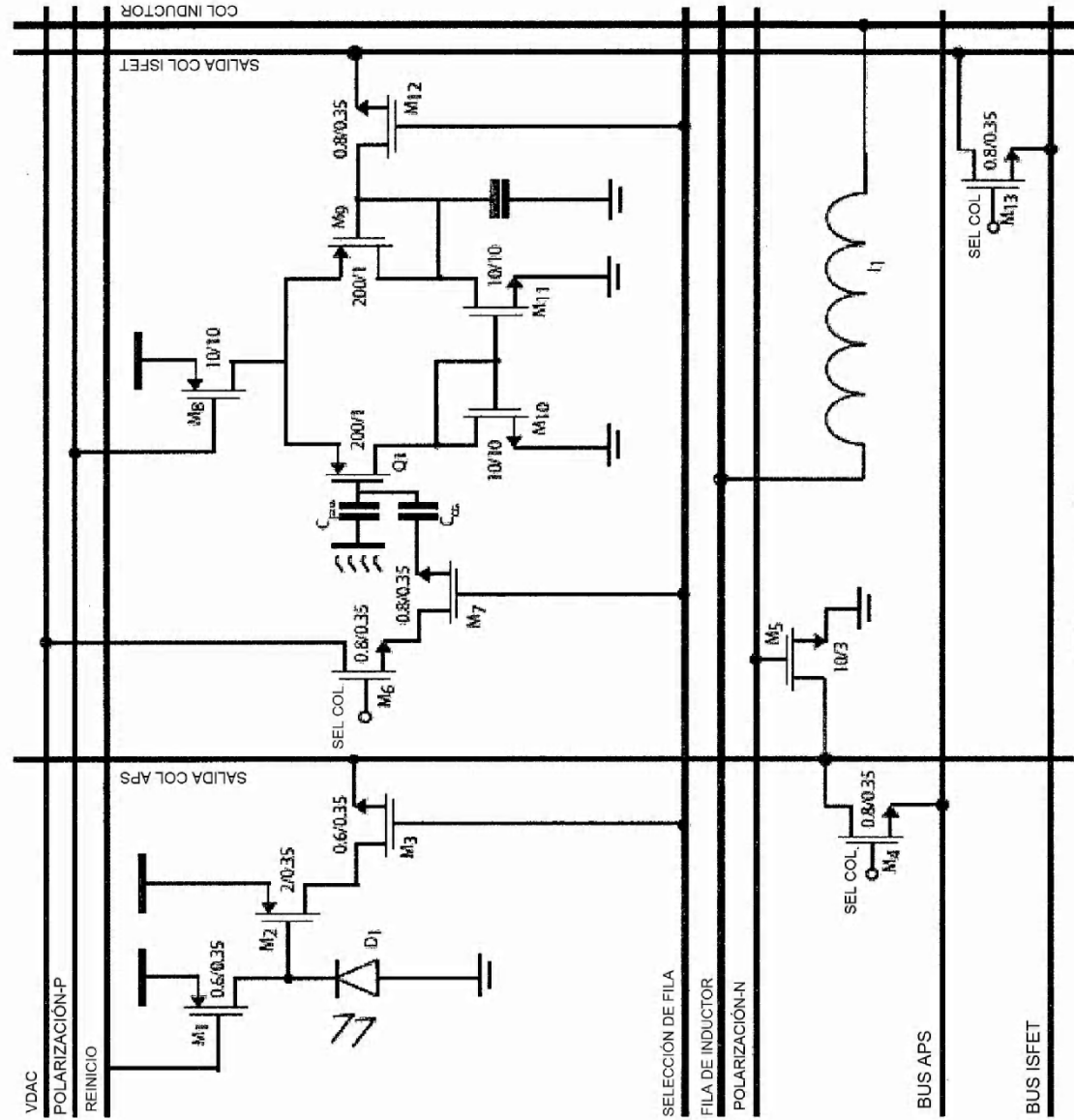


Figura 3

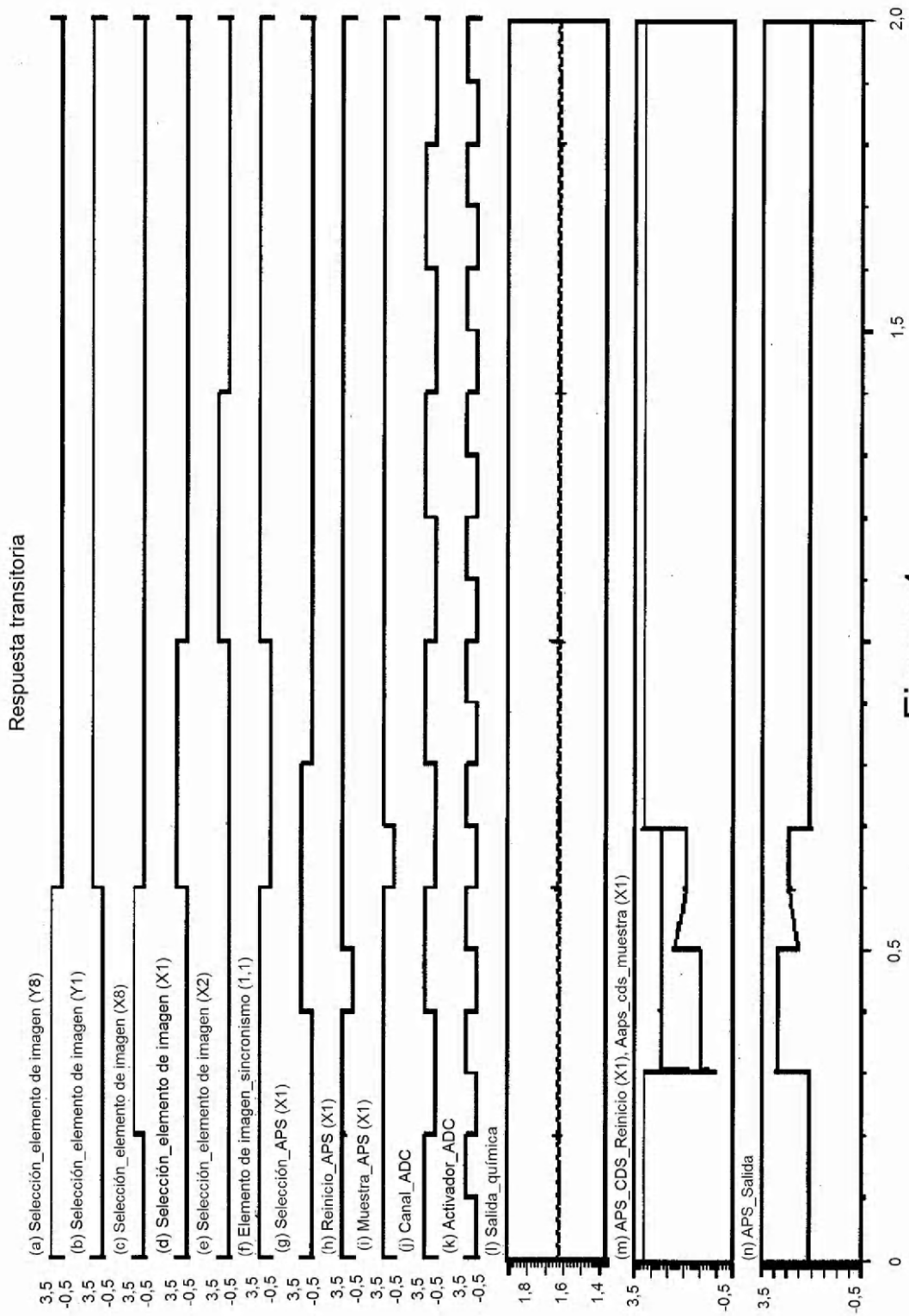


Figura 4

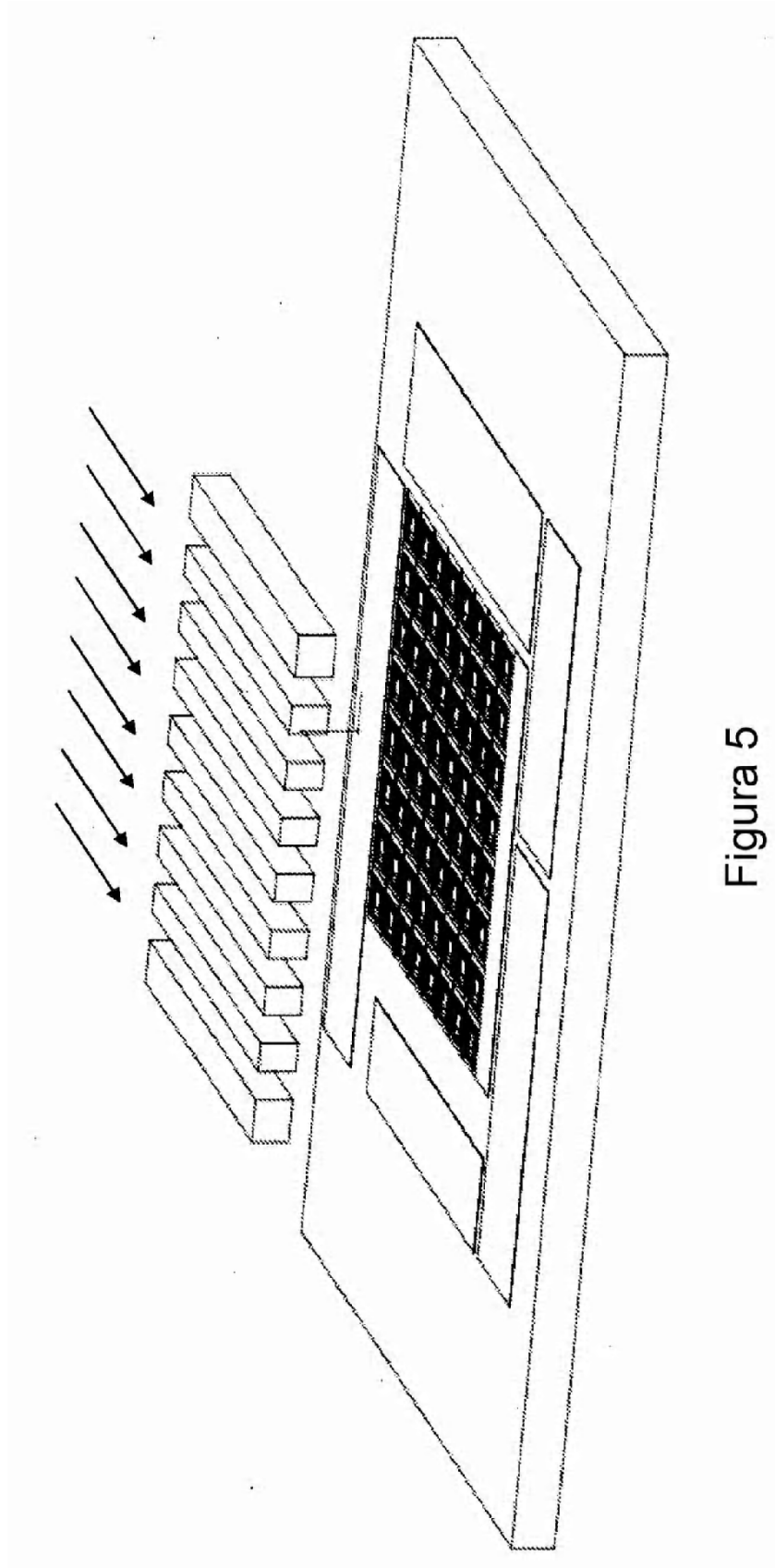


Figura 5

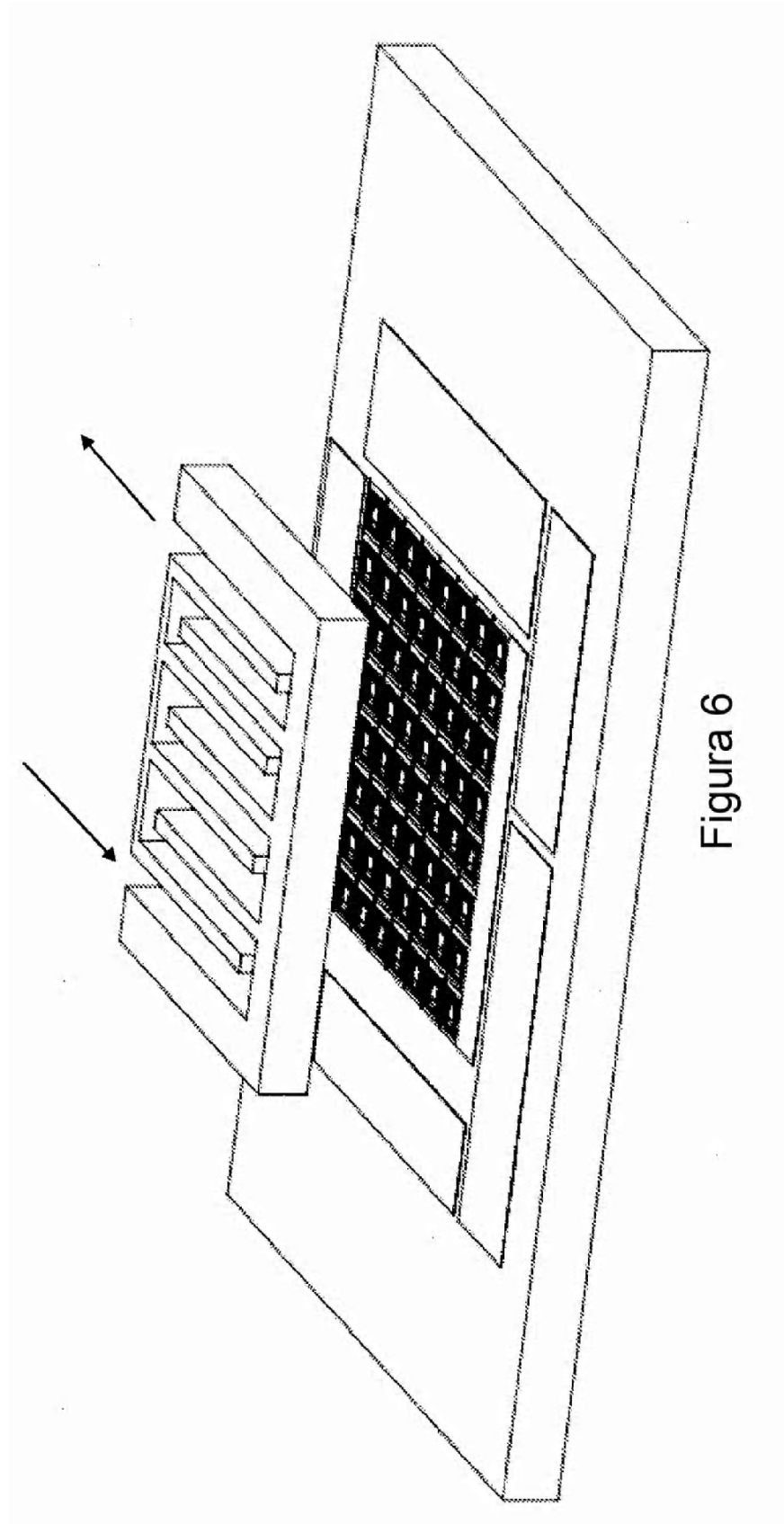


Figura 6