

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 612 550**

21 Número de solicitud: 201631409

51 Int. Cl.:

G01N 21/25 (2006.01)

B82Y 20/00 (2011.01)

C12Q 1/68 (2006.01)

G02B 6/00 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

04.11.2016

43 Fecha de publicación de la solicitud:

17.05.2017

Fecha de concesión:

15.09.2017

45 Fecha de publicación de la concesión:

22.09.2017

73 Titular/es:

**UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA
(100.0%)**

**Edificio Nexus (6G) 3ª planta - Camí de Vera, s/n
46022 Valencia (Valencia) ES**

72 Inventor/es:

**BAÑULS POLO, María José;
GARCÍA RUPÉREZ, Jaime;
MAQUIEIRA CATALÁ, Ángel y
MARTÍ SENDRA, Javier**

74 Agente/Representante:

ILLESCAS TABOADA, Manuel

54 Título: **DISPOSITIVO Y MÉTODO DE SENSADO FOTÓNICO QUE COMPRENEN ELEMENTOS DE BIORECONOCIMIENTO CON CAMBIO CONFORMACIONAL**

57 Resumen:

Dispositivo y método de sensado fotónico que comprenden elementos de bioreconocimiento con cambio conformacional.

La presente invención se refiere a un dispositivo y un método de sensado fotónico para la detección de analitos (12) que comprenden una estructura fotónica (9) como elemento de transducción y elementos de bioreconocimiento (10), afines a los analitos (12) a detectar; siendo dichos elementos de bioreconocimiento (10) capaces de experimentar un cambio conformacional al estar en presencia de los analitos (12) y teniendo fijadas partículas (11) de un tamaño mayor al de los analitos (12), del orden de nanómetros y/o un índice de refracción superior a 1.3.

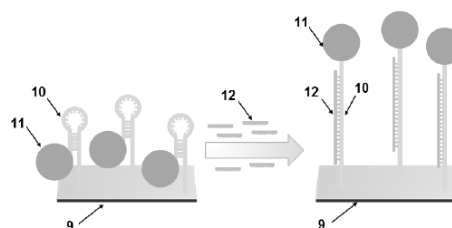


Figura 2

ES 2 612 550 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 40.2.8 LP 11/1986.

DESCRIPCIÓN

DISPOSITIVO Y MÉTODO DE SENSADO FOTÓNICO QUE COMPRENDEN ELEMENTOS DE BIORECONOCIMIENTO CON CAMBIO CONFORMACIONAL

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un método y un dispositivo de sensado fotónico destinado a la detección de sustancias específicas de interés (analitos).

10 El método y el dispositivo de la invención permiten, además, la amplificación de la señal producida por los eventos de sensado que se producen cuando se hace uso de estructuras fotónicas como elementos de transducción. Este método y dispositivo se basan en utilizar elementos de bioreconocimiento que experimenten un cambio conformacional al producirse un evento de sensado, de forma que este cambio conformacional se utilice para desplazar una
15 partícula de alto índice de refracción y/o tamaño que estará fijada al propio elemento de bioreconocimiento. De este modo, los cambios conformacionales producidos por los eventos de sensado provocarán una mayor variación de la respuesta óptica del elemento fotónico de transducción en comparación con los mecanismos tradicionales de reconocimiento, consiguiendo así ser capaz de detectar concentraciones significativamente menores de analito,
20 así como analitos con masa molecular reducida.

ESTADO DE LA TÉCNICA

25 Hoy en día resulta fundamental disponer de dispositivos o métodos de sensado que permitan medir de una manera rápida, eficiente y fiable un gran número de parámetros, como por ejemplo, temperatura, presión, intensidad de campo eléctrico, etc. Además de para la medida de dichas magnitudes físicas (para las que ya existen métodos de medida tremendamente maduros), el mayor interés se centra actualmente en el desarrollo de dispositivos o métodos de
30 sensado para la detección, identificación y cuantificación de sustancias (a las que denominamos analito), como puedan ser gases, líquidos, proteínas, hormonas, bacterias o ADN, entre muchas otras. Estos dispositivos son los denominados biosensores, los cuales tienen aplicación en infinidad de campos, como por ejemplo, la investigación farmacéutica, el diagnóstico de enfermedades, la detección de contaminantes, o la guerra bacteriológica.

Un biosensor es un dispositivo analítico que estará formado básicamente por un elemento de bioreconocimiento, que se encarga de proporcionar selectividad frente al analito de interés, y de un elemento de transducción, el cual se encarga de generar una señal medible y relacionada con la cantidad de analito para su detección y/o cuantificación.

5

Respecto a los elementos de bioreconocimiento, los más habituales son aquellos basados en afinidad, como son por ejemplo: anticuerpos, aptámeros u oligonucleótidos. Estos elementos de bioreconocimiento tienen una elevada afinidad frente a los analitos a los que son específicos, de forma que se utilizan estas interacciones para provocar un cambio de señal medible y cuantificable en el elemento de transducción del biosensor.

10

Respecto a los elementos de transducción, estos son sensibles a aquellos cambios que tienen lugar cuando se producen los eventos de reconocimientos indicados previamente. En función del tipo de cambios detectados se distinguen diferentes tipos de elementos de transducción, como por ejemplo, los electroquímicos, los piezoeléctricos o los ópticos/fotónicos, entre otros. Cada tecnología de transducción tiene sus ventajas e inconvenientes, lo que las puede hacer más adecuadas para unas aplicaciones u otras.

15

Independientemente del tipo de biosensor (i.e., del mecanismo de bioreconocimiento y del tipo de elemento de transducción) uno de los principales retos de estos es el ser capaz de detectar concentraciones extremadamente bajas de analito (e.g., por debajo de valores de nanogramo/mililitro, picomolar o femtomolar, etc.), ya que son esos intervalos de trabajo los realmente relevantes en determinadas aplicaciones de tremendo interés como por ejemplo el diagnóstico precoz de enfermedades (e.g., cáncer, Alzheimer, cardiovasculares) o la detección rápida de amenazas biológicas (e.g., toxinas, Ántrax). En estos casos en los que se tiene una mínima concentración del analito, el bajo número de interacciones que se producen entre los elementos de bioreconocimiento y los propios analitos que se quieren detectar apenas producirán un cambio sobre la respuesta del elemento de transducción, de forma que serán difícilmente detectadas.

25

30

Además de rebajar las concentraciones que pueden ser detectadas mediante los biosensores desarrollados, parte del interés actual se centra también en detectar analitos de masa molecular reducida (e.g., del orden de unos pocos kiloDalton o incluso por debajo del kiloDalton). De modo similar a lo que ocurre cuando se tiene una baja concentración de analito, el hecho de que los

analitos tengan una baja masa molecular se traducirá en que el cambio que producirán sobre el elemento de transducción del biosensor será también muy pequeño, llegando incluso a ser indetectable por éste.

5 La solución habitual para estas limitaciones (i.e., la imposibilidad de detectar bajas concentraciones de analitos y/o analitos de masa molecular reducida) es mediante el uso de lo que se denominan marcadores. Mediante un tratamiento adecuado de la muestra que contiene el analito a detectar (generalmente este tratamiento se realiza en laboratorio), se consigue
10 enlazar el marcador utilizado a dicho analito. Este marcador consiste en un material que presenta unas determinadas propiedades físicas, como por ejemplo, fluorescencia, radioactividad, etc., de modo que la detección del analito se realiza de una forma indirecta, midiendo dicha fluorescencia, radioactividad, etc. Sin embargo, el uso de marcadores para realizar el sensado plantea diversos problemas, como pueden ser, por ejemplo, la necesidad de realizar una preparación previa de la muestra a analizar (lo cual puede ser complejo y requerir
15 de un tiempo elevado) o la dificultad para encontrar un método que fije los marcadores únicamente y de forma específica a los analitos que deseamos detectar.

Respecto a los elementos de transducción, una de las opciones que mayor interés despierta actualmente es la utilización de tecnología fotónica para su creación. En un biosensor basado
20 en tecnología fotónica (también conocido como “dispositivo de sensado fotónico”) se hará uso del cambio que se produce en la respuesta óptica (i.e., para frecuencias en el rango óptico del espectro) del dispositivo fotónico para detectar el analito de interés. Una de las implementaciones más habituales de transductores fotónicos es aquella en la que la detección se basa en la monitorización del cambio que se produce en la respuesta de la estructura
25 fotónica cuando se produce una variación del índice de refracción debido a la presencia del analito que se quiere detectar.

El uso de la tecnología fotónica para la implementación de sistemas de biosensado proporciona una serie de ventajas de enorme interés frente a otras tecnologías de transducción, como son la
30 alta sensibilidad que proporcionan, el reducido tamaño de las estructuras que permitirá un alto nivel de integración, una respuesta rápida, la capacidad de realizar análisis sin necesidad de marcadores, la necesidad de volúmenes de muestra muy bajos para realizar el análisis o la posibilidad de usar técnicas de fabricación en masa procedentes del campo de la microelectrónica para la fabricación con bajo coste de dispositivos integrados de sensado

fotónico.

De forma habitual, el cambio espectral que se utiliza para llevar a cabo el sensado fotónico se basa en monitorizar el desplazamiento de la respuesta espectral de la estructura de sensado cuando se producen los eventos de sensado. Esto es lo que se hace por ejemplo para algunas estructuras típicas de sensado basadas en tecnología fotónica integrada como son las estructuras resonantes basadas en anillos o discos [1-2], o los cristales fotónicos (o de forma general, estructuras dieléctricas periódicas) [3-4]. En ambos casos, la presencia del analito que se quiere detectar provocará un cambio de la distribución dieléctrica de la estructura, lo que se traducirá en un desplazamiento de las resonancias en las estructuras resonantes, o de la banda prohibida fotónica y/o de las bandas guiadas para el caso de los cristales fotónicos o las estructuras dieléctricas periódicas.

Existen, adicionalmente, otras estructuras fotónicas integradas que permiten realizar funciones de sensado utilizando directamente la amplitud de salida de una señal de una determinada longitud de onda, de forma que no resulta necesario monitorizar continuamente el espectro de transmisión del dispositivo. Ejemplos de este tipo de sistemas de sensado, basados en la amplitud, son los interferómetros Mach-Zehnder [5] o los acopladores direccionales [6]. A pesar de que dichos sistemas son capaces de proporcionar dispositivos de sensado más sencillos, llevan consigo el problema de que necesitan dimensiones del dispositivo muy grandes (del orden de varios milímetros o centímetros) para tener una interacción entre el campo y el analito que sea suficiente para realizar la detección, limitando así el nivel de integración que se puede conseguir en estructuras compactas.

Pese a que los resultados reportados por diversos grupos de investigación demuestran el gran potencial de la tecnología fotónica de sensado para la detección de bajas concentraciones de analito [7-12], existe todavía la necesidad de desarrollar implementaciones de biosensores fotónicos que permitan alcanzar límites de detección del orden del picogramo/mililitro, picomolar o incluso inferiores (siempre dependiendo del tipo de analito a detectar), de una forma rápida y sencilla haciendo uso de estructuras fotónicas de sensado compactas.

En este contexto, el método y dispositivo de amplificación de sensado fotónico propuesto en la presente invención permite incrementar el efecto que la interacción entre el elemento de bioreconocimiento y el analito tienen sobre la estructura fotónica de sensado, de forma que

5 permita reducir de forma significativa el límite de detección alcanzable (i.e., detectar menores concentraciones del analito, del orden de picogramo/mililitro, picomolar o incluso inferiores, dependiendo del tipo de analito a detectar), así como permitir la detección de todo tipo de analitos difícilmente detectables con las técnicas disponibles actualmente (por ejemplo y sin carácter limitativo, biomarcadores de baja masa molecular, pesticidas y microARNs). Esta
10 amplificación de los eventos de sensado se llevará a cabo sin la necesidad de realizar ninguna preparación especial de la muestra a analizar (e.g., marcaje, amplificación por reacción en cadena de la polimerasa, etc.), de forma que se podrán obtener sistemas finales más sencillos, fáciles de usar, compactos y económicos. Además, al consistir este método y dispositivo en una implementación especial del elemento de bioconocimiento utilizado, podrá ser utilizado con cualquier estructura de sensado fotónico en la que el mecanismo de detección se base en el cambio de respuesta que ocurre al producirse un cambio en la distribución dieléctrica de la estructura. Este método y dispositivo también podría ser aplicable a otras metodologías de sensado donde la detección se base en las variaciones de la distribución dieléctrica, como es el
15 caso de los sensores plasmónicos.

Referencias citadas:

[1] De Vos, K., Bartolozzi, I., Schacht, E., Bienstman, P., Baets, R., "Silicon-on-Insulator microring resonator for sensitive and label-free biosensing", (2007) Optics Express, 15 (12), pp. 7610-7615.

[2] McClellan, M.S., Domier, L.L., Bailey, R.C., "Label-free virus detection using silicon photonic microring resonators", (2012) Biosensors and Bioelectronics, 31 (1), pp. 388-392.

[3] García-Rupérez, J., Toccafondo, V., Banuls, M.J., Castelló, J.G., Griol, A., Peransi-Llopis, S., Maquieira, A., "Label-free antibody detection using band edge fringes in SOI planar photonic crystal waveguides in the slow-light regime", (2010) Optics Express, 18 (23), pp. 24276-24286.

[4] Castelló, J.G., Toccafondo, V., Escorihuela, J., Bañuls, M.J., Maquieira, A., García-Rupérez, J., "Real-time observation of antigen-antibody association using a low-cost biosensing system based on photonic bandgap structures", (2012) Optics Letters, 37 (17), pp. 3684-3686.

- [5] Sepúlveda, B., Snchez Del Río, J., Moreno, M., Blanco, F.J., Mayora, K., Domínguez, C., Lechuga, L.M., "Optical biosensor microsystems based on the integration of highly sensitive Mach-Zehnder interferometer devices", (2006) *Journal of Optics A: Pure and Applied Optics*, 8 (7), pp. S561-S566.
- 5
- [6] Luff, B.J., Harris, R.D., Wilkinson, J.S., Wilson, R., Schiffrin, D.J., "Integrated-optical directional coupler biosensor", (1996) *Optics Letters*, 21 (8), pp. 618-620.
- [7] Huertas, C.S, Fariña, D., Lechuga, L.M., "Direct and Label-Free Quantification of Micro-RNA-181a at Attomolar Level in Complex Media Using a Nanophotonic Biosensor", (2016) *ACS Sensors*, 1, pp. 748-756.
- 10
- [8] Soler, M., Estevez, M.-C., Villar-Vazquez, R., Casal, J.I., Lechuga, L.M., "Label-free nanoplasmonic sensing of tumor-associate autoantibodies for early diagnosis of colorectal cancer", (2016) *Analytica Chimica Acta*, 930, pp. 31-38.
- 15
- [9] Washburn, A.L., Shia, W.W., Lenkeit, K.A., Lee, S.-H., Bailey, R.C., "Multiplexed cancer biomarker detection using chip-integrated silicon photonic sensor arrays", (2016) *Analyst*, 141 (18), pp. 5358-5365.
- 20
- [10] Wade, J.H., Alsop, A.T., Vertin, N.R., Yang, H., Johnson, M.D., Bailey, R.C., "Rapid, Multiplexed Phosphoprotein Profiling Using Silicon Photonic Sensor Arrays", *ACS Central Science* (2015), 1(7), 374-382.
- [11] Chistiakova, M.V., Shi, C., Armani, A.M., "Label-free, single molecule resonant cavity detection: A double-blind experimental study", (2015) *Sensors (Switzerland)*, 15 (3), pp. 6324-6341.
- 25
- [12] Mehrabani, S., Maker, A.J., Armani, A.M., "Hybrid integrated label-free chemical and biological sensors", (2014) *Sensors (Switzerland)*, 14 (4), pp. 5890-5928.
- 30

OBJETO DE LA INVENCION

Un objeto de la presente invención es obtener dispositivos de sensado fotónico de alta sensibilidad (caracterizada por unos límites de detección del orden de picogramo/mililitro, picomolar o incluso inferiores, dependiendo del tipo de analito a detectar) mediante el uso de
5 elementos de reconocimiento en los que el proceso de detección del analito de interés producirá un cambio conformacional que provoque un mayor efecto sobre la estructura fotónica de sensado respecto al que produciría el propio evento tradicional de reconocimiento receptor-analito.

10 Otro objeto de la presente invención es obtener dispositivos de sensado fotónico de alta sensibilidad en los que se consiguen bajos límites de detección (del orden de picogramo/mililitro, picomolar o incluso inferiores, dependiendo del tipo de analito a detectar) sin la necesidad de utilizar ningún proceso de preparación de muestra complejo como el marcado o
15 la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa, reduciendo así la complejidad, el tamaño y el coste de los elementos de análisis finales.

Otro objeto de la presente invención es la obtención de dispositivos de sensado fotónico de alta sensibilidad en los que el elemento de reconocimiento es del tipo baliza molecular, aptámero o
20 equivalente, con una partícula fijada a ellos, la cual será desplazada para producir una amplificación del evento de reconocimiento.

Otro objeto de la presente invención es la obtención de dispositivos de sensado fotónico de alta sensibilidad en los que la partícula unida al elemento de reconocimiento, la cual
25 cambiará su posición al producirse el evento de reconocimiento, podrá ser tanto de tipo dieléctrico, metálico o biológico.

Otro objeto de la presente invención es la obtención de dispositivos de sensado fotónico de alta sensibilidad en los que los eventos de reconocimiento, y por tanto el desplazamiento de las
30 partículas fijadas a los elementos de reconocimiento, se produzca tanto en la parte externa de las estructuras fotónicas de sensado, como en su parte interna en el caso de trabajar, por ejemplo, con estructuras porosas.

Otro objeto de la presente invención es la obtención de dispositivos de sensado fotónico de alta

sensibilidad en los que se produce un efecto de amplificación del cambio espectral debido al cambio conformacional de los elementos de bioreconocimiento utilizados, pero en los que el rango de frecuencias de trabajo no es exclusivamente el óptico.

5 Otro objeto de la presente invención es la obtención de dispositivos de sensado fotónico de alta sensibilidad en los que el cambio conformacional de los elementos de bioreconocimiento utilizados incluye su ruptura, de forma que ésta provocará la liberación de la partícula unida al elemento de transducción a través del elemento de bioreconocimiento.

10 Otras características de la presente invención se desprenderán de la descripción detallada que sigue, junto con una realización preferida de su objeto.

A efectos de la presente invención, se definen los siguientes términos:

15 - Evento de sensado: proceso de detección de analitos en el que, salvo que se diga lo contrario, se emplea un dispositivo y/o un método según la invención.

- Elemento de transducción o transductor: elemento encargado de convertir los eventos de sensado en una señal medible. Para el caso de esta invención estaremos considerando un transductor de tipo óptico/fotónico en el que el sensado se basa en detectar las variaciones
20 producidas en la respuesta de la estructura cuando se produce una variación de la distribución eléctrica.

- Elementos de bioreconocimiento, receptores o bioreceptores: elementos que se combinan con el transductor para que interaccionen de forma específica con los analitos a detectar, de forma que esta interacción produzca una señal medible por el transductor. En el caso de
25 esta invención se consideran elementos de bioreconocimiento que experimentan un cambio conformacional al producirse la detección del analito.

- Analito: Sustancia objeto del sensado, presentada en estado sólido, líquido o gaseoso.

- Cambio conformacional: cambio en la disposición espacial de un elemento de bioreconocimiento, causado por la combinación de dicho elemento de bioreconocimiento con el
30 analito.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las figuras 1a, 1b y 1c describen de forma esquemática el funcionamiento de un dispositivo de sensado fotónico, provisto de un elemento de transducción con una banda prohibida fotónica.

5

La figura 1a representa el estado inicial del espectro de transmisión (Y) de una señal en función de la longitud de onda (X) a través de una estructura que presenta una banda prohibida fotónica.

10 La figura 1b representa el espectro de transmisión (Y) de una señal en función de la longitud de onda (X) a través de una estructura que presenta una banda prohibida fotónica, una vez se han producido los eventos de sensado que se quieren detectar.

15 La figura 1c muestra la evolución de la posición espectral de la característica espectral que se está monitorizando (Y') en función del tiempo (X') para el caso de un sensor fotónico genérico, considerando tanto la fase de sensado como las etapas anterior y posterior a éste

20 La figura 2 muestra de forma esquemática el funcionamiento de un dispositivo de sensado fotónico según la presente invención. En la realización mostrada, se utilizan balizas moleculares como elementos de bioconocimiento, cada una de las cuales tiene uno de sus extremos fijado sobre la superficie del elemento fotónico de transducción y una partícula de gran tamaño y/o alto índice fijada en el otro extremo.

25 Las figuras 3a, 3b y 3c muestran de forma esquemática diversos elementos fotónicos de transducción que pueden ser utilizados en la presente invención. La figura 3a muestra un anillo resonante acoplado a una guía de acceso, la figura 3b muestra una estructura dieléctrica periódica unidimensional y la figura 3c muestra una estructura dieléctrica periódica bidimensional.

30 La figura 4 muestra los diferentes parámetros físicos que definen al elemento fotónico de transducción descrito en la figura 3c.

La figura 5 es una gráfica que representa la transmisión normalizada frente a la longitud de onda correspondiente a un procedimiento de sensado fotónico utilizando el elemento de

transducción mostrado en la figura 3c.

La figura 6 describe de forma esquemática una realización preferida de la presente invención. En esta realización preferida, los elementos de bioreconocimiento basados en balizas
5 moleculares unidas a partículas de gran tamaño y/o alto índice son inmovilizados sobre la superficie de una estructura de sensado basada en el fenómeno de banda prohibida fotónica.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

10 Un primer aspecto de la invención se refiere a un dispositivo de sensado fotónico para la detección de analitos que comprende un elemento de transducción en la forma de una estructura fotónica y elementos de bioreconocimiento afines a los analitos a detectar. Dicho dispositivo de sensado fotónico está caracterizado porque los elementos de bioreconocimiento sufren un cambio conformacional al estar en presencia del analito a detectar y porque dichos
15 elementos de bioreconocimiento tienen fijadas partículas de un tamaño mayor al de los analitos a detectar, del orden de nanómetros, y/o valores del índice de refracción superiores a 1.3.

El dispositivo de sensado fotónico según la invención permite la detección de analitos con alta sensibilidad, mediante el uso de elementos de bioreconocimiento que experimenten un cambio
20 conformacional (i.e., un cambio en su disposición espacial) al producirse la detección del analito deseado, de forma que este cambio conformacional provoque el desplazamiento de partículas fijadas a los propios elementos de bioreconocimiento.

El desarrollo de dicho dispositivo de sensado fotónico, aprovecha las propiedades físicas de las
25 estructuras fotónicas de sensado basadas en desplazamiento espectral. En estas estructuras fotónicas de sensado, su respuesta espectral en transmisión o reflexión dependerá de la configuración dieléctrica de los materiales que componen la estructura empleada, por lo que, cualquier variación en esa composición dieléctrica se traducirá en una variación de la respuesta espectral, lo cual habitualmente se traducirá así mismo en un desplazamiento espectral. Por
30 tanto, monitorizando el desplazamiento en frecuencia (o en longitud de onda) experimentado por la respuesta espectral de la estructura fotónica de sensado seremos capaces de detectar la presencia (y cantidad) de los analitos de interés.

El cambio conformacional que se produce en los elementos de bioreconocimiento debido a la interacción con el analito, provoca que las partículas con alto índice de refracción (superior a

1.3) o con mayor tamaño (del orden de nanómetros) -que están fijadas a dichos elementos de bioreconocimiento- se desplacen con respecto a su posición original o nativa (en ausencia de analito). Esto modifica adicionalmente la distribución dieléctrica de la estructura fotónica, amplificando el desplazamiento espectral que se produce debido a la presencia del analito.

5

Gracias a este efecto de amplificación, los dispositivos según la presente invención tienen una mayor sensibilidad en el sensado fotónico que los dispositivos basados en mecanismos de reconocimiento tradicionales, siendo ésta de hasta varios órdenes de magnitud, en función de la configuración específica de los elementos de bioreconocimiento usados, por ejemplo y sin carácter limitativo, de dos órdenes de magnitud.

10

En una realización de la invención, los elementos de bioreconocimiento son balizas moleculares.

15

Las balizas moleculares (molecular beacons en inglés) son sondas moleculares que, en su estado nativo (i.e., en ausencia de analito), tienen forma de horquilla y están provistas de dos extremos entre los que cuales está dispuesta una secuencia específica, complementaria al analito que se desea detectar.

20

En presencia de analito, por el contrario, las secuencias específicas de las balizas moleculares hibridan con secuencias complementarias del analito adoptando una posición estirada. Este cambio conformacional sufrido por las balizas moleculares modifica la posición relativa de las partículas unidas a dichas balizas moleculares, con respecto a la posición que mantenían en ausencia del analito. Esto genera un cambio en la distribución dieléctrica de la estructura

25

fotónica que provoca, a su vez, un cambio en su respuesta espectral permitiendo la detección de los analitos con una mayor sensibilidad.

30

Es importante señalar que las balizas del estado de la técnica se utilizan para la detección de analitos por análisis de fluorescencia. Para ello, uno de sus extremos está unido a una partícula fluorescente, mientras que el otro está unido a un inhibidor de la fluorescencia. En el estado nativo, dichas balizas moleculares tienen forma de horquilla, de modo que las partículas fluorescentes están enfrentadas a los inhibidoras de la fluorescencia y muy próximas a éstos, lo que evita la aparición de fluorescencia. En presencia de analito, por el contrario, las secuencias específicas de las balizas moleculares hibridan con secuencias complementarias del analito,

adoptando una posición estirada. Esto hace que las partículas fluorescentes se alejen de los inhibidores de fluorescencia, de forma que estos últimos ya no pueden evitar que aparezca fluorescencia.

- 5 Las balizas moleculares de uso en la presente invención son, por tanto, distintas de las usadas en la técnica anterior (carecen de partículas fluorescentes y de inhibidores de la fluorescencia) y se utilizan en procedimientos de sensado diferentes (de tipo fotónico). En dichos procedimientos fotónicos no se detecta ninguna fluorescencia, sino que se miden cambios en la respuesta espectral de una estructura de sensado fotónico causada por la modificación de su distribución dieléctrica debida, a su vez, a la eventual presencia de un analito.
- 10

En otra realización de la invención los elementos de bioconocimiento son balizas moleculares con secuencias específicas de oligonucleótidos, de ADN, ARN, y/o microARN.

- 15 En otra realización de la invención, los elementos de bioconocimiento son aptámeros. Los aptámeros son elementos de bioconocimiento basados en cadenas sencillas de oligonucleótidos de ADN o ARN con una estructura 3D característica capaz de reconocer y unirse de manera específica y con elevada afinidad al analito diana.

- 20 En otra realización de la invención el cambio conformacional de los elementos de bioconocimiento provoca su ruptura, haciendo así que las partículas unidas a dichos elementos de bioconocimiento sean liberadas del elemento de transducción al que están inicialmente inmovilizadas (i.e., en ausencia de analito).

- 25 Respecto a las partículas fijadas a los elementos de bioconocimiento, éstas pueden ser tanto partículas dieléctricas con un tamaño del orden de nanómetros y una conductividad eléctrica menor que $0.1 \text{ S}\cdot\text{m}^{-1}$, partículas metálicas con tamaños del orden de nanómetros o moléculas biológicas con tamaños del orden de nanómetros y masa molecular superior a 10 KiloDalton. Su objetivo consiste en provocar una variación en la respuesta mayor a la que se produce por el
- 30 puro evento de sensado (reconocimiento bioreceptor-analito), las partículas a utilizar deberán tener un tamaño mayor al del propio analito a detectar y/o un alto índice de refracción (superior a 1.3), siendo el efecto de amplificación del evento de sensado mayor cuanto mayor sea el tamaño de la partícula y/o su índice de refracción. Respecto al caso del uso de una partícula metálica, su presencia también provocará la aparición de efectos plasmónicos, los cuales se

consideran equivalentes a los efectos de sensado fotónico considerados en esta invención. A los efectos de la presente invención, se entiende como efecto plasmónico a aquella señal producida en el interfaz entre materiales metálicos y dieléctricos y que también puede ser utilizada para realizar funciones de sensado.

5

Además, a los efectos de la presente invención se entiende que una partícula dieléctrica es aquella que posee una conductividad eléctrica menor que $0.1 \text{ S}\cdot\text{m}^{-1}$. Asimismo, se entiende que una partícula metálica es aquella formada por un elemento metálico puro, una aleación de elementos metálicos puros y/o un compuesto metálico. Por último, se entiende que una

10 molécula biológica es aquella molécula que está presente o tiene un efecto en un organismo vivo, por ejemplo y sin carácter limitativo, una proteína, un lípido, o un anticuerpo.

15

Respecto a las estructuras fotónicas de sensado consideradas en esta invención, se consideran todas aquellas en las que el sensado se basa en el cambio de respuesta fotónica que se produce al variar la distribución dieléctrica del sistema. Esto incluye estructuras típicamente usadas en el sensado fotónico como los resonadores (por ejemplo, anillos resonantes, como se muestra en la figura 3a), las estructuras de banda prohibida fotónica basadas en distribuciones periódicas unidimensionales (como se muestra en la figura 3b) o las estructuras de banda prohibida fotónica basadas en distribuciones periódicas bidimensionales (como se muestra en

20 la figura 3c), pero también incluye otras estructuras típicas para sensado fotónico como las cavidades resonantes en estructuras de banda prohibida fotónica, las estructuras fotónicas basadas en guías de ranura, las estructuras interferométricas como las Mach-Zehnder, o los acopladores direccionales, entre muchas otras. Pero además, también será aplicable no sólo a configuraciones de estructuras fotónicas integradas creadas en sustratos planares, sino

25 también aquellas estructuras fotónicas basadas en otras configuraciones como por ejemplo estructuras multicapa, estructuras de sensado en fibra óptica, etc. que basen el sensado en la variación de respuesta óptica producida al cambiar la distribución dieléctrica de la estructura.

30

También en lo que se refiere a las estructuras fotónicas que se pueden utilizar en la presente invención, no sólo se consideran aquellas en las que el evento de sensado detectado (i.e., la interacción entre los elementos de bioreconocimiento y el analito) se produce en la superficie externa de la estructura fotónica considerada, ocurriendo así una interacción con el campo evanescente que se propaga por fuera de la propia estructura, sino también aquellas estructuras fotónicas en las que los eventos de sensado se producen en el interior de la propia

estructura, como cuando se usan materiales porosos.

Un segundo aspecto de la presente invención se refiere a un método de sensado fotónico, que comprende el uso de un dispositivo de sensado fotónico según la invención.

5

Esta invención describe, pues, un método y un dispositivo de sensado fotónico para la detección de analitos con una alta sensibilidad en el que el desplazamiento de las partículas fijadas a los elementos de bioreconocimiento producido por el cambio conformacional de estos últimos permitirá detectar concentraciones menores de los analitos, así como analitos de menor masa molecular. Este método y dispositivo será válido en todas aquellas configuraciones de sensado basadas en la variación que se produce en la respuesta espectral de la estructura fotónica de sensado al tener lugar un cambio de la distribución dieléctrica de ésta, independientemente del tipo de estructura de sensado utilizada, del rango de frecuencias consideradas y del tipo de partículas utilizadas para fijarlas a los elementos de bioreconocimiento.

10
15

REALIZACIONES PREFERIDAS DE LA INVENCION

A continuación, se describen varios ejemplos concretos de la invención haciendo referencia a las figuras adjuntas. En dichas figuras, los componentes con funciones iguales o similares se han designado usando el mismo número de referencia.

20

El principio básico de funcionamiento de un dispositivo de sensado fotónico basado en desplazamiento espectral se muestra en las figuras 1a, 1b y 1c para el caso particular y genérico de una estructura de banda prohibida fotónica. Una estructura de banda prohibida fotónica (o *photonic band gap* del inglés, como se las conoce más habitualmente) es una estructura dieléctrica periódica la cual puede presentar regiones del espectro en las que no está permitida la propagación de ondas, región frecuencial a la que se conoce como banda prohibida fotónica. Tal y como se ha descrito previamente, la posición de dicha banda prohibida fotónica es dependiente de la distribución dieléctrica de la estructura, la cual cambiará al producirse los eventos de sensado. En la figura 1a se representa el estado inicial en el que se tiene el espectro de transmisión (Y) de la estructura de sensado considerada, el cual presenta una banda prohibida fotónica (1) que cubre un determinado rango de longitudes de onda (X); esta banda prohibida estará delimitada por dos bordes en los que se pasa de la banda de

25
30

transmisión a la banda prohibida fotónica (2) y viceversa (3). En la figura 1b se representa el estado en el que se han producido los eventos de sensado del analito. La detección del analito provoca una variación del índice de refracción en la estructura fotónica, provocando a su vez un desplazamiento del espectro de transmisión (Y) de ésta respecto al mostrado en la figura 1a. En la figura 1b se puede ver cómo se ha producido un desplazamiento de la banda prohibida fotónica y por tanto un cambio en la posición de los bordes en los que se pasa de la banda de transmisión a la banda prohibida fotónica y viceversa, pasando de la posición (2) a la (4) y de la (3) a la (5) respectivamente. En la figura 1c se muestra la evolución de la posición espectral de la característica espectral que se esté monitorizando (Y') en función del tiempo (X'), la cual en este ejemplo podría ser la evolución de la posición del borde en el que se pasa de la banda de transmisión a la banda prohibida fotónica ((2) en figuras 1a y 1b) o la del borde en el que se pasa de la banda prohibida fotónica a la banda de transmisión ((3) en figuras 1a y 1b). En esta evolución se puede ver cómo la característica espectral monitorizada permanece en una determinada longitud de onda (o frecuencia) (6), de forma que al producirse los eventos de sensado se producirá un desplazamiento de la posición de la característica espectral (7) hasta llegar a una posición de desplazamiento máximo (8) determinada por el experimento concreto que se está realizando.

El desplazamiento experimentado por la respuesta espectral de una estructura de sensado fotónico, mostrado en (7) en la figura 1c, vendrá determinado, entre otros factores, por la concentración y por la masa molecular del analito a detectar. De esta forma en los dispositivos de la técnica anterior, aquellas situaciones en las que se tenga una concentración muy baja del analito a detectar o aquellas en las que la masa molecular del analito sea muy reducida, provocarán desplazamientos espectrales extremadamente reducidos y que serán difícilmente detectables por el elemento de sensado.

El dispositivo de sensado fotónico según la invención permite, por el contrario, amplificar el desplazamiento espectral producido por la presencia de analito, mejorando la sensibilidad en el sensado fotónico.

El principio de funcionamiento de un dispositivo de sensado fotónico según la presente invención se describe de forma esquemática en la figura 2.

Dicho dispositivo de sensado fotónico según la invención comprende, tal y como se muestra en

la parte izquierda de la figura 2, una estructura fotónica de sensado (9) con elementos de bioreconocimiento (10) que tienen fijadas partículas (11).

5 Al pasar una muestra que contiene analitos (12) por dicho dispositivo de sensado fotónico, tal y como se ilustra en la parte derecha de la figura 2, la detección de estos analitos (12) por parte de los elementos de bioreconocimiento (10) producirá un cambio conformacional en el elemento de bioreconocimiento (10) que se traducirá en un cambio de la posición de las partículas (11) fijadas a estos elementos de bioreconocimiento (10) respecto a la estructura fotónica de sensado (9). De esta forma, el evento de detección producido provocará un cambio en la
10 distribución dieléctrica de la estructura fotónica de sensado (9), que conllevará una variación en la respuesta (i.e., un desplazamiento espectral) significativamente mayor al que se produciría mediante una estrategia convencional de reconocimiento bioreceptor-analito. Por tanto, mediante el método y el dispositivo de sensado propuesto en esta invención será posible detectar concentraciones significativamente más bajas de analito y/o analitos con una masa
15 molecular más reducida (de varios órdenes de magnitud en función de la configuración bioreceptor-partícula seleccionada) sin necesidad de llevar a cabo complejos procesos de preparación de muestra adicionales como el marcaje de los analitos o la amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa.

20 La figura 3 muestra de forma esquemática diversas configuraciones de estructuras fotónicas de sensado (9) que pueden ser utilizadas con el dispositivo y método de amplificación descrito en esta invención. La figura 3a muestra un anillo resonante acoplado a una guía de acceso, la figura 3b muestra una estructura dieléctrica periódica unidimensional y la figura 3c muestra una estructura dieléctrica periódica bidimensional.

25 La figura 4 muestra una realización preferida de la invención en la que la estructura fotónica de sensado (9) es una estructura periódica unidimensional creada en silicio, sobre un substrato inferior de óxido de Silicio, y que está inicialmente rodeada por aire. Se parte de una guía monomodo de altura $h = 220\text{nm}$ y anchura $w = 460\text{nm}$, en la que se introducen de forma
30 periódica una serie de elementos transversales para formar la celda básica (15) que se replica de forma periódica. Los elementos transversales tienen unas dimensiones de $w_i = 140\text{nm}$ y $w_e = 2\mu\text{m}$. La entrada a la estructura fotónica se realiza por (13) y la salida se realiza por (14). Seleccionando un periodo de $a = 360\text{nm}$ se consigue tener un borde entre la banda prohibida fotónica y la banda de transmisión para el espectro de transmisión normalizada (Y'') de los

modos con polarización TE (definida dicha polarización como aquella para la cual el campo eléctrico tiene sus componentes en el plano de la estructura planar) situado aproximadamente a una longitud de onda (λ) de 1565nm, tal y como se muestra en la figura 5 con la referencia (16). Al producirse los eventos de sensado que se quieren detectar, se producirá un desplazamiento del borde entre la banda prohibida fotónica y la banda de transmisión, tal y como se describía de forma esquemática en la figura 1. En cualquier caso, insistir en que la parte relevante de esta invención no se refiere a la propia estructura de sensado, ya que tal y como se ha indicado previamente sería válida cualquier estructura de sensado basada en la detección de variaciones de índice de refracción, sino que la parte relevante de esta invención radica en la amplificación de los eventos de sensado gracias al uso de elementos de bioreconocimiento (10) que experimentan un cambio conformacional al producirse esos eventos, así como al hecho de que dichos elementos de bioreconocimiento (10) están unidos a partículas (11) que incrementan aún más el desplazamiento espectral al producirse un evento de sensado.

La figura 5 representa la transmisión normalizada (T), expresada en dB, frente a la longitud de onda (λ), expresada en nanómetros, para la estructura fotónica de sensado (9) de la realización de la invención mostrada en la figura 4. En la respuesta espectral mostrada se puede observar la presencia de un borde (16) en el que se pasa de la banda prohibida fotónica a la banda de transmisión de la estructura considerada.

La figura 6 describe de forma esquemática una realización preferida de la invención. En esta realización preferida, los elementos de bioreconocimiento (10) están basados en balizas moleculares unidas a partículas (11) de gran tamaño (del orden de 6 nm de diámetro) y/o alto índice de refracción (del orden de 2,5). Los elementos de bioreconocimiento (10) están inmovilizados sobre la superficie de una estructura fotónica de sensado (9) basada en el fenómeno de banda prohibida fotónica. Los elementos de bioreconocimiento (10) experimentarán un cambio conformacional al producirse la detección de analitos (12) basados en cadenas de oligonucleótidos, en este caso, microARNs.

La estructura fotónica de sensado será biofuncionalizada de forma que se inmovilicen sobre ella los elementos de bioreconocimiento (10) encargados de detectar los analitos de interés. En esta realización preferida los elementos de reconocimiento (10) son del tipo baliza molecular (o *molecular beacon* del inglés, como se las conoce más habitualmente). Dichos elementos (10)

consisten en una cadena de oligonucleótidos sintetizados artificialmente que se caracterizan por tener una forma de horquilla en la que la zona del tallo (10a) (o *stem* del inglés, como se la conoce más habitualmente) se forma por la hibridación entre las 5-7 pares de bases complementarias que forman los extremos de la baliza molecular, dejando una zona de bucle (10b) (o *loop* del inglés, como se lo conoce más habitualmente) abierta a través de la que se producirá el reconocimiento del analito (12) que se quiere detectar, en este caso, una cadena de oligonucleótidos. Al producirse el reconocimiento del analito (12) por parte de la baliza molecular, el proceso de hibridación producirá un cambio conformacional que se traduce en una apertura del bucle (10b) y que alejará ambos extremos de la baliza molecular. En esta realización preferida los elementos de bioconocimiento (10) de tipo baliza molecular comprenden una región de bucle de unos 18-25 nucleótidos, una región tallo de 5-7 nucleótidos y un espaciador adicional (10c) en la terminación, de unos 10-15 nucleótidos, a través de la que se inmovilizan a la superficie de la estructura fotónica (9). A cada elemento de bioconocimiento (10) de tipo baliza molecular se le unirá una partícula dieléctrica de alto índice (11) para provocar su desplazamiento. Esta unión se realizará a través de la terminación de la baliza molecular (10) que no tiene el espaciador adicional previamente comentado y que no será utilizada para inmovilizarla a la superficie. Se considera que estas partículas dieléctricas están compuestas de óxido de titanio, con un índice alrededor de $n \approx 2.5$ y con un diámetro de alrededor de 6nm.

Se utiliza la configuración previamente descrita de estructura fotónica de sensado, de baliza molecular (10) y de nanopartícula dieléctrica (11) de cara a detectar cadenas de oligonucleótidos de unas 22 bases; en concreto, se considera la detección de cadenas de microARN. La baja masa molecular y las concentraciones extremadamente bajas que son de interés para estos analitos dificulta de forma notable su detección directa haciendo uso de estructuras fotónicas de sensado (y por lo general, mediante cualquier otro método de detección). Sin embargo, el uso de la configuración descrita previamente provocará que cuando el microARN sea detectado por la baliza molecular y ésta sufra el cambio conformacional descrito anteriormente (mostrado en la parte derecha de la figura 6), la nanopartícula (11) de alto índice será desplazada respecto de la estructura fotónica de sensado. Este efecto producirá un aumento significativo del cambio de señal a detectar respecto al caso en el que se considera un mecanismo de reconocimiento tradicional. Para el caso descrito de forma esquemática en esta realización preferida, se calcula que el evento de reconocimiento provoca un desplazamiento de la partícula dieléctrica de unos 15-20nm respecto a la superficie del

dispositivo de sensado fotónico, lo que se traducirá, en esta realización específica de la invención, en un factor de amplificación de alrededor de 2 órdenes de magnitud sobre el efecto de sensado.

- 5 Este nivel de amplificación del efecto de sensado será dependiente de diversos parámetros como por ejemplo el tipo de analito a detectar (i.e., para analitos livianos, el efecto de amplificación por el cambio conformacional podrá ser superior), el índice de refracción y el tamaño de la partícula fijada al elemento de bioreconocimiento, la posición en la que se fija la partícula (10) al elemento de bioreconocimiento o la magnitud del desplazamiento de la
- 10 partícula (10) que se produce por el cambio conformacional experimentado, entre otros.

REIVINDICACIONES

1.- Dispositivo de sensado fotónico para la detección de analitos (12) que comprende un elemento de transducción en la forma de una estructura fotónica (9) y elementos de
5 bioreconocimiento (10), afines a los analitos (12) a detectar; caracterizado porque los elementos de bioreconocimiento (10) sufren un cambio conformacional al estar en presencia de los analitos (12) a detectar y porque dichos elementos de bioreconocimiento (10) tienen fijadas partículas (11) de un tamaño mayor al de los analitos (12), del orden de nanómetros, y/o un índice de refracción mayor que 1.3.

10

2.- Dispositivo de sensado fotónico según la reivindicación 1, en el que los elementos de bioreconocimiento (10) son balizas moleculares.

3. Dispositivo de sensado fotónico según la reivindicación 2, caracterizado porque los
15 elementos de bioreconocimiento (10) son balizas moleculares con secuencias específicas de oligonucleótidos, de ADN, ARN, y/o de microARN.

4.- Dispositivo de sensado fotónico según cualquiera de las reivindicaciones 2 y 3, caracterizado porque los elementos de bioreconocimiento (10) son balizas moleculares
20 provistas de una región tallo (10a) de 5-7 nucleótidos, una región de bucle (10b) de 18-25 nucleótidos y un espaciador adicional (10c), de unos 10-15 nucleótidos, inmovilizado a la superficie de la estructura fotónica (9).

5. Dispositivo de sensado fotónico según la reivindicación 1, caracterizado porque los
25 elementos de bioreconocimiento (10) son aptámeros.

6. Dispositivo de sensado fotónico según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la estructura fotónica (9) posee una parte interna formada por un material poroso.

30

7.- Dispositivo de sensado fotónico según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque las partículas (11) fijadas a los elementos de bioreconocimiento (10) son partículas dieléctricas con un tamaño del orden de nanómetros, una conductividad eléctrica menor que $0.1 \text{ S} \cdot \text{m}^{-1}$ y un índice de refracción superior a 1.3.

8.- Dispositivo de sensado fotónico según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, caracterizado porque las partículas (11) fijadas a los elementos de bioreconocimiento (10) son partículas metálicas con un tamaño del orden de nanómetros y formadas por un elemento metálico puro, una aleación de elementos metálicos puros y/o un compuesto metálico.

5

9.- Dispositivo de sensado fotónico según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, caracterizado porque las partículas (11) fijadas a los elementos de bioreconocimiento (10) son moléculas biológicas con un tamaño del orden de nanómetros y una masa molecular superior a 10 KiloDalton.

10

10.- Dispositivo de sensado fotónico según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la estructura fotónica (9) se selecciona entre: un resonador, un anillo resonante, una estructura de banda prohibida fotónica con distribuciones periódicas unidimensionales, una estructura de banda prohibida fotónica con distribuciones periódicas bidimensionales, una estructura de banda prohibida fotónica con cavidad resonante, una estructura fotónica con guías de ranura, una estructura interferométrica de Mach-Zehnder o un acoplador direccional.

15

11.- Método de sensado fotónico, caracterizado porque comprende las siguientes etapas:

20

a) proporcionar un dispositivo de sensado fotónico para la detección de analitos (12) que comprende:

- un elemento de transducción en la forma de una estructura fotónica (9);
- elementos de bioreconocimiento (10), afines a los analitos (12) a detectar y que sufren un cambio conformacional al estar en presencia de dichos analitos (12); y
- partículas (11), de un tamaño mayor al de los analitos (12), del orden de nanómetros o un índice de refracción mayor que 1,3 y que están fijadas a dichos elementos de bioreconocimiento (10);

25

b) medir el espectro de transmisión (Y) en función de la longitud de onda (X), a través de dicho dispositivo de sensado fotónico y en ausencia de analitos (12);

30

c) poner en contacto el susodicho dispositivo de sensado fotónico con una muestra a analizar, susceptible de contener analitos (12);

d) medir el espectro de transmisión (Y) en función de la longitud de onda (X) de la misma señal de la etapa b), a través del dispositivo de sensado fotónico, una vez que el

referido dispositivo de sensado fotónico se ha puesto en contacto con la muestra; y

e) medir el cambio de respuesta espectral existente entre las medidas tomadas en las etapas b) y d).

5 12. Método de sensado fotónico según la reivindicación 11, caracterizado porque el cambio conformacional de los elementos de bioreconocimiento (10) provoca la ruptura de dichos elementos de bioreconocimiento (10), de modo que las partículas (11) se liberan del elemento de transducción.

10 13. Método de sensado fotónico según cualquiera de las reivindicaciones 11 y 12, caracterizado porque la interacción entre los elementos de bioreconocimiento (10) y los analitos (12) se produce en la parte externa de la estructura fotónica (9).

15 14. Método de sensado fotónico según cualquiera de las reivindicaciones 11 y 12, caracterizado porque la interacción entre los elementos de bioreconocimiento (10) y los analitos (12) se produce en la parte interna de la estructura fotónica (9), formada por un material poroso.

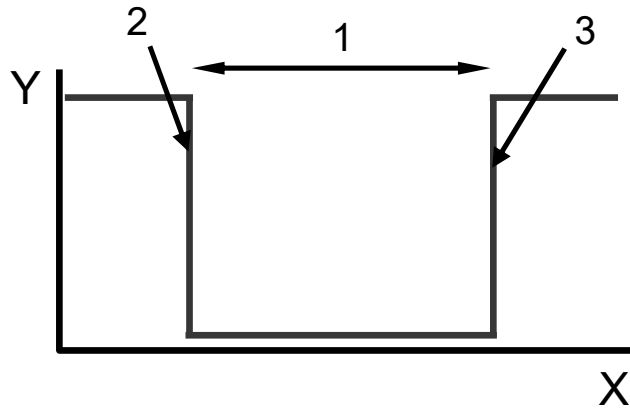


Figura 1a

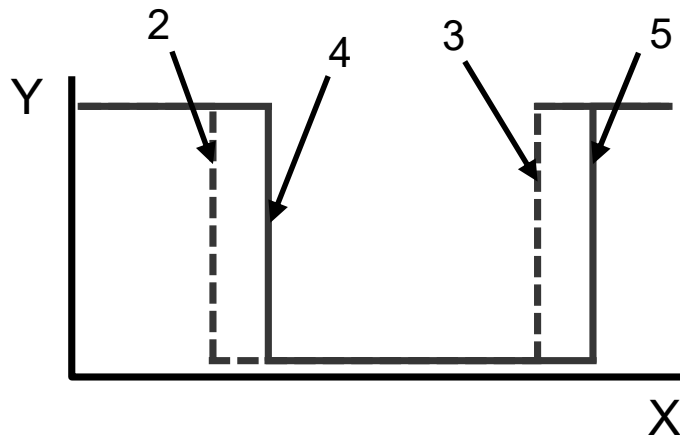


Figura 1b

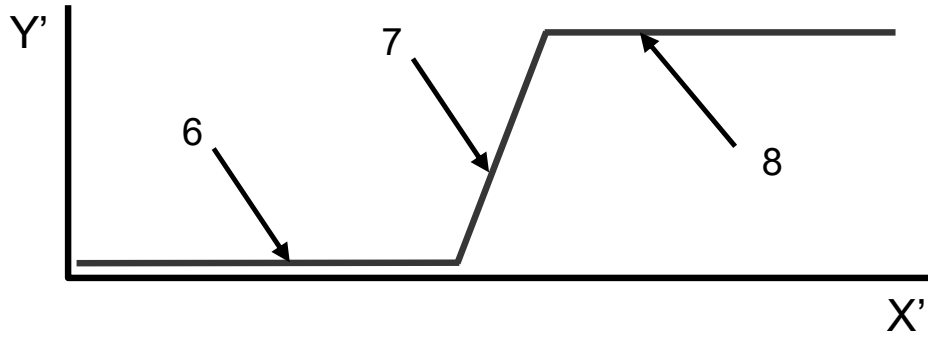


Figura 1c

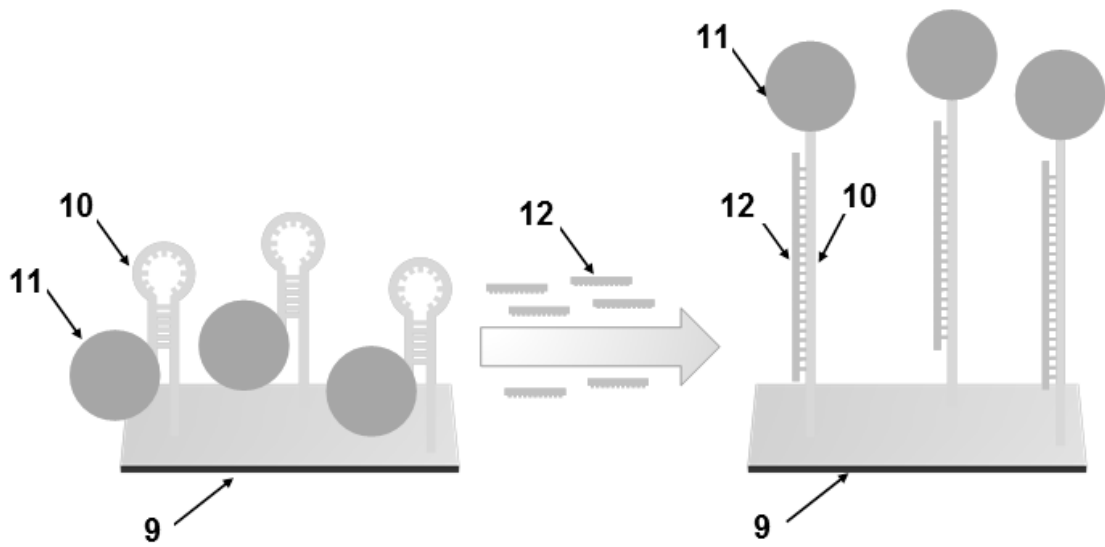


Figura 2

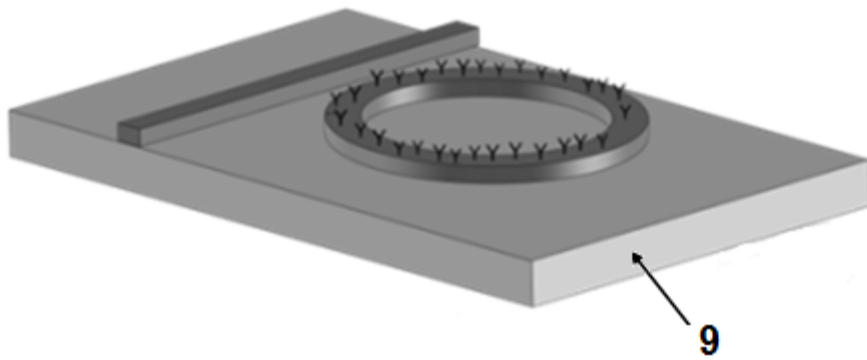


Figura 3a

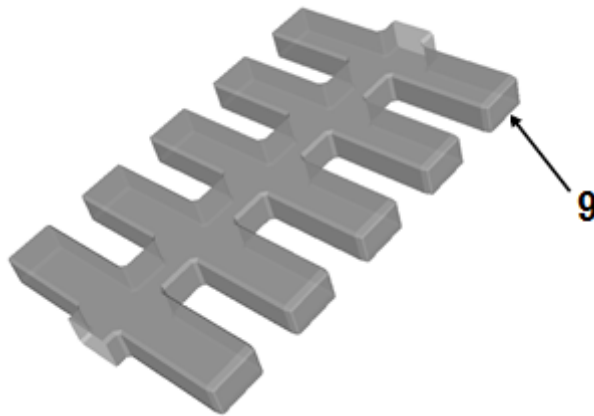


Figura 3b

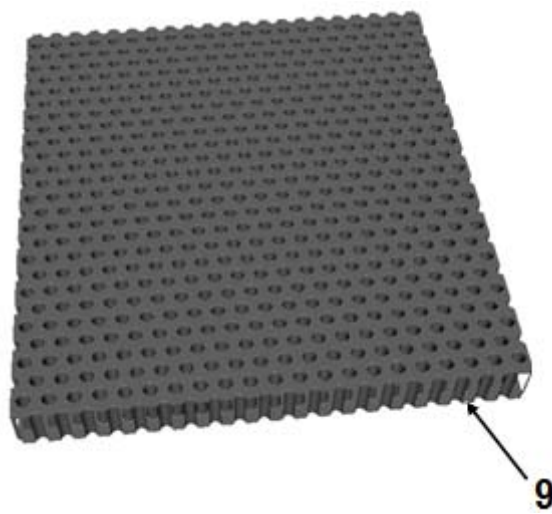


Figura 3c

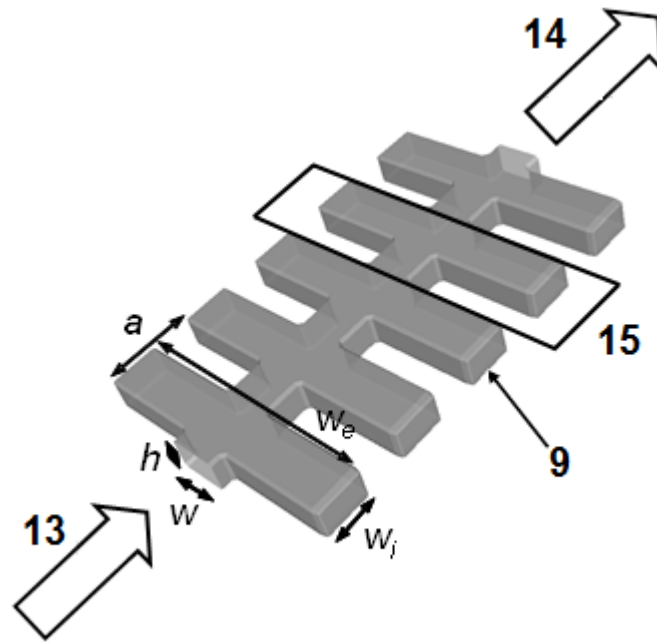


Figura 4

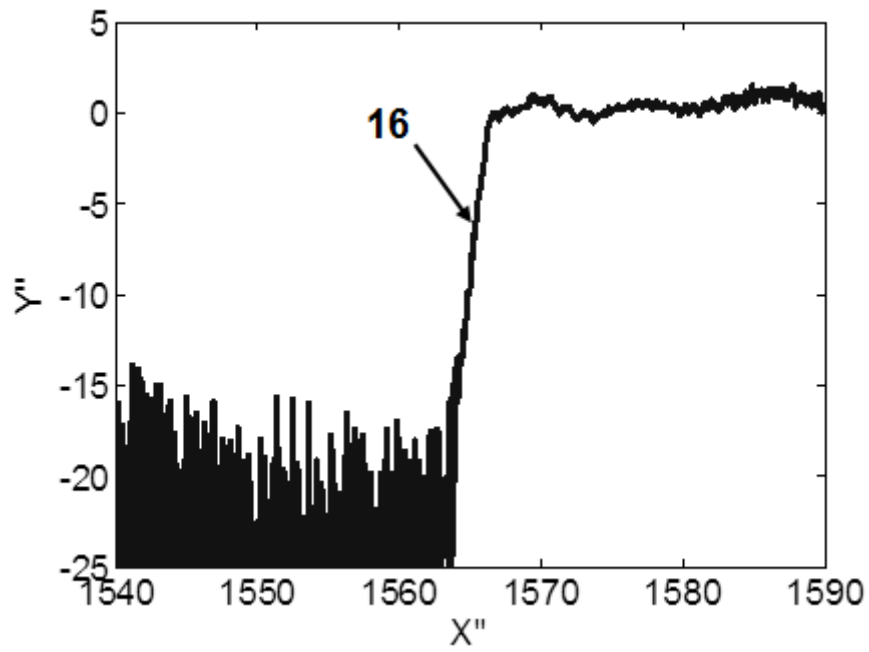


Figura 5

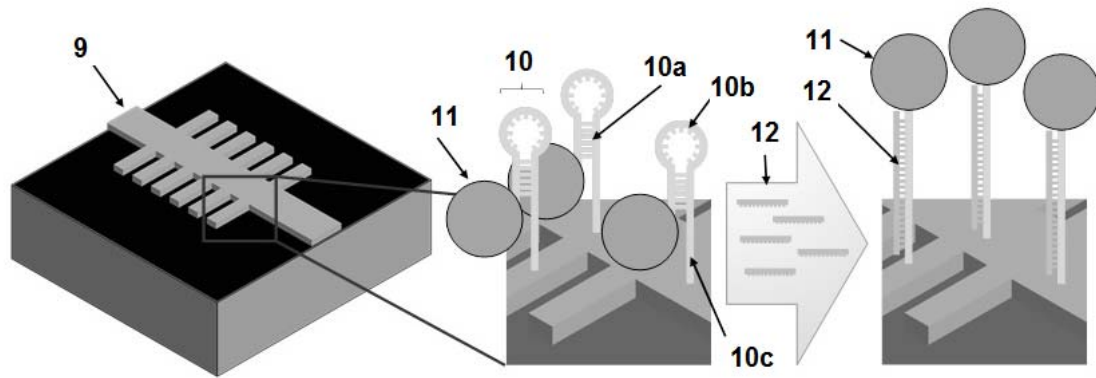


Figura 6



- ②① N.º solicitud: 201631409
②② Fecha de presentación de la solicitud: 04.11.2016
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	Wang, C., et al., HIGHLY SENSITIVE USER FRIENDLY THROMBIN DETECTION USING EMISSION LIGHT, Sensors and Actuators B: Chemical, 25/09/2015, Vol. 223, páginas 372-378, <DOI: 10.1016/j.snb.2015.09.101>. Apartado: "Materials and methods" y figs. 1 y 2.	1-14
A	Kyung, W., et al., LABEL-FREE BIOSENSOR BASED ON AN ELECTRICAL TRACING-ASSISTED SILICON MICRORING RESONATOR WITH A LOW-COST BROADBAND SOURCE, Biosensors and Bioelectronics, 26/02/2013, Vol. 46, páginas 15-21. Apartado: "Experimental" y fig. 1.	1-14
A	Park, J.-H., et al., HIGH-SENSITIVITY DETECTION OF ATP USING A LOCALIZED SURFACE PLASMON RESONANCE (LSPR) SENSOR AND SPLIT APTAMERS, Biosensors and Bioelectronics, 15/11/2015, Vol. 73, páginas 26 - 31, <DOI: doi:10.1016/j.bios.2015.05.043>. Apartado: "Experimental methods" y esquema 1.	1-14
A	Yuan, Q., ET AL., APTAMER-CONJUGATED OPTICAL NANOMATERIALS FOR BIOANALYSIS, Trends in Analytical Chemistry, 2012, Vol. 39, páginas 72-86. Figuras.	1-14
A	Song, S., et al., APTAMER-BASED BIOSENSORS, Trends in Analytical Chemistry, 23/12/2007, Vol. 27, páginas 108 - 117, 0165-9936, <DOI: 0165-9936>. Figuras.	1-14

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
08.05.2017

Examinador
M. d. García Poza

Página
1/5



- ②¹ N.º solicitud: 201631409
②² Fecha de presentación de la solicitud: 04.11.2016
③² Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤¹ Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤ ⁶ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	US 2014113359 A1 (DUTTA ACHYUT KUMAR et al.) 24/04/2014, Párrafos [0011 - 0041].	1-14

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
08.05.2017

Examinador
M. d. García Poza

Página
2/5

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

G01N21/25 (2006.01)

B82Y20/00 (2011.01)

C12Q1/68 (2006.01)

G02B6/00 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G01N, B82Y, C12Q, G02B

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, NPL, XPESP, HCAPLUS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 26.04.2017

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-14	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-14	SI
	Reivindicaciones	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	Wang, C., et al., HIGHLY SENSITIVE USER FRIENDLY THROMBIN DETECTION USING EMISSION LIGHT, Sensors and Actuators B: Chemical, 25/09/2015, Vol. 223, páginas 372-378, <DOI: 10.1016/j.snb.2015.09.101>.	25.09.2015
D02	Kyung, W., et al., LABEL-FREE BIOSENSOR BASED ON AN ELECTRICAL TRACING-ASSISTED SILICON MICRORING RESONATOR WITH A LOW-COST BROADBAND SOURCE, Biosensors and Bioelectronics, 26/02/2013, Vol. 46, páginas 15-21.	26.02.2013
D03	Park, J.-H., et al., HIGH-SENSITIVITY DETECTION OF ATP USING A LOCALIZED SURFACE PLASMON RESONANCE (LSPR) SENSOR AND SPLIT APTAMERS, Biosensors and Bioelectronics, 15/11/2015, Vol. 73, páginas 26 - 31, <DOI: doi:10.1016/j.bios.2015.05.043>.	15.11.2015

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

Los documentos encontrados más cercanos del estado de la técnica son los siguientes:

El documento D01 divulga un dispositivo de sensado fotónico (apartado: "Materials and methods" y figs. 1 y 2) para la detección de analitos (trombina) utilizando elementos de bioreconocimiento que experimentan cambios conformacionales tras la interacción con el analito (aptámero) unidos a una nanopartícula (punto cuántico Qdot 545) dispuestos sobre una estructura fotónica (un cristal fotónico nanoporoso tridimensional).

El documento D02 divulga un dispositivo de sensado fotónico (apartado: "Experimental" y fig. 1) para la detección de analitos (inmunoglobina y trombina) utilizando elementos de bioreconocimiento que experimentan cambios conformacionales tras la interacción con el analito (aptámero) dispuestos sobre una estructura fotónica (un resonador de microanillo).

El documento D03 divulga un sensor de resonancia de plasmón superficial (apartado: "Experimental methods" y esquema 1) para la detección de analitos (ATP) utilizando elementos de bioreconocimiento que experimentan cambios conformacionales tras la interacción con el analito (aptámero) unidos a una nanopartícula (tinte derivado de rodamina) dispuestos sobre nanovarillas de oro.

En todos los casos, el método de sensado del analito se basa en el cálculo de la variación de la señal de salida que experimenta el dispositivo de sensado cuando éste se irradia con y sin analito.

La diferencia entre el dispositivo de la invención, según se recoge en la reivindicación 1, y los divulgados en los documentos D01 a D03, es que en el primero la nanopartícula tiene un índice de refracción mayor que 1,3, lo que modifica adicionalmente la distribución dieléctrica de la estructura fotónica, amplificando el desplazamiento espectral que se produce debido a la presencia del analito.

Por lo tanto, a la vista de la información divulgada en el estado de la técnica, se considera que el dispositivo de la invención, según se recoge en las reivindicaciones 1 a 10, así como el método de sensado que utiliza dicho dispositivo, según se recoge en las reivindicaciones 11 a 14, presentan novedad y actividad inventiva (Arts. 6.1 y 8.1 LP 11/1986).