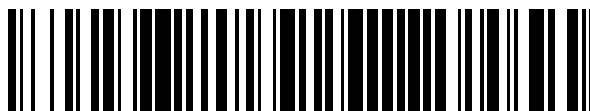


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 694 017**

51 Int. Cl.:

G01N 21/64 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.11.2007 PCT/FR2007/001913**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.06.2008 WO08074938**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.11.2007 E 07870317 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.07.2018 EP 2084515**

54 Título: **Dispositivo para la detección exaltada de la emisión de una partícula diana**

30 Prioridad:

21.11.2006 FR 0610178

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

17.12.2018

73 Titular/es:

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (C.N.R.S.) (50.0%)
3 rue Michel-Ange
75794 Paris Cedex 16, FR y
UNIVERSITÉ D'AIX-MARSEILLE (50.0%)**

72 Inventor/es:

**RIGNEAULT, HERVÉ;
LENNE, PIERRE-FRANÇOIS;
WENGER, JÉRÔME;
POPOV, EVGUENI y
EBBESSEN, THOMAS**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 694 017 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Dispositivo para la detección exaltada de la emisión de una partícula diana

5 La invención se refiere a un dispositivo para la detección de la emisión de una partícula diana en una longitud de onda de emisión, comprendiendo dicho dispositivo:

- un fotodetector que comprende una superficie sensible de detección de alto índice óptico;
- siendo dicha partícula diana posicionable cerca de dicha superficie sensible en un medio de análisis de bajo índice óptico. "

10 Tal dispositivo es conocido por la publicación "Opto-electronic DNA chip: high performance chip reading with an all-electric interface", Frédéric Mallard et al., Biosensors & Bioelectronics, 20 (2005) 1813-1820. Esta publicación enseña una matriz de fotodetección de tipo CMOS utilizada para recibir sondas de injerto, pudiendo las sondas recibir moléculas diana de ADN por hibridación. Dichas moléculas diana de ADN pueden hibridarse en la superficie de la matriz utilizando sondas situadas en la superficie de la matriz. Las sondas están adaptadas para recibir las moléculas de ADN diana a detectar. Una vez que las moléculas diana de ADN se posicionan en las sondas mediante hibridación y enjuague de una manera conocida per se, la publicación mencionada anteriormente enseña la detección de la emisión de las partículas diana utilizando la matriz de fotodetección.

20 En el dispositivo mencionado anteriormente, después del injerto, las sondas se alinean en la superficie exterior del fotodetector. Para un medio de análisis que comprende las sondas de índice óptico bajo y un fotodetector de índice óptico alto, las leyes de Snells-Descartes indican que es posible obtener una detección de la emisión de las partículas en el fotodetector de alto índice óptico.

25 La ventaja del dispositivo mencionado anteriormente es que permite mejorar la sensibilidad de la detección con respecto a los sistemas de detección de campo lejano conocidos por una cámara debido al gran ángulo sólido bajo el cual las partículas ven el fotodetector.

30 Sin embargo, la sensibilidad del dispositivo todavía no es satisfactoria, y es ventajoso mejorar aún más la sensibilidad de dicho dispositivo, es decir, aumentar la cantidad de señal de emisión de las partículas diana recogidas en el fotodetector.

35 Otros documentos en el campo técnico proporcionan información sobre varios aspectos relacionados con los microchips integrados: US 2005/0214160 A1; WO 2007/045755 A1; H. Rigneault et al. Phys. Rev. Lett 95 (2005) 117401; F. Mallard et al. Biosens. Bioelectron. 20 (2005) 1813-1820; C. Genet y T.W. Ebbesen, Nature 445 (2007) 39-46. El objeto de la invención es, en particular, mejorar el dispositivo como se describió anteriormente para obtener una mejor sensibilidad.

40 Para ello, la invención se refiere a un dispositivo de acuerdo con las características técnicas de la reivindicación 1.

45 De acuerdo con la invención, por ejemplo, cuando una sonda se injerta en el dispositivo cerca de la superficie sensible en el orificio, y una partícula diana se hibrida con la sonda, la señal óptica emitida por la partícula diana queda confinada, lo que permite mejorar la cantidad de señal recogida.

50 Más concretamente, se ha demostrado, en el caso de la detección de la fluorescencia de campo lejano, que la presencia de orificios o nano-orificios permite retardar la saturación de la fluorescencia, al tiempo que aumenta la intensidad de excitación local en el orificio y el rendimiento radiativo de fluorescencia, lo que mejora la tasa de fluorescencia por partícula diana. La publicación "Enhancement of Single-Molecule Fluorescence Détection in Subwavelength Apertures" Rigneault et al., Physical Review Letters, 11, 117401 2005, ilustra este fenómeno. Sin embargo, este resultado no se presenta en la publicación anterior salvo para detección de campo lejano.

55 De acuerdo con la invención, la exaltación de la emisión y la detección de las partículas diana se lleva a cabo para una detección de campo cercano, es decir, generalmente para una distancia entre la partícula diana hibridada con una sonda injertada y la superficie sensible del fotodetector inferior a la longitud de onda de emisión de la partícula diana.

60 La ventaja de la máscara también es que el tamaño de los orificios se puede reducir libremente hasta diámetros más pequeños a la longitud de onda de emisión de las partículas diana. Esto puede permitir obtener altas densidades de emisión por unidad de área mientras permite la detección de partículas individuales.

65 Además, la detección por el fotodetector se mejora aún más, de acuerdo con la invención, gracias a al menos una ranura colocada en una interfaz de la máscara, rodeando cada una de dichas al menos una ranura cada uno de dichos al menos un orificio.

Por lo tanto, de acuerdo con la invención, las ranuras forman una red de ondulación de forma circular y tienen el doble efecto de exaltar aún más la luz emitida por las partículas diana y dirigir la luz emitida por la partícula diana en una o más direcciones del espacio. De esta forma, la directividad de la emisión y la cantidad de señal recogida se mejoran. De esta manera, la sensibilidad del fotodetector es mejor.

5 Por otro lado, cuando la partícula es excitada por un haz de excitación y la ranura se coloca en la interfaz entre la máscara y el medio de análisis, el dispositivo mejora la eficiencia de la excitación al orientar sustancialmente el haz de excitación al orificio y por lo tanto a la partícula a excitar.

10 El efecto físico que permite obtener estos resultados es un acoplamiento al modo plasmón en la interfaz que incluye la ranura. Mediante este acoplamiento plasmónico, la luz es dirigida y exaltada.

En las reivindicaciones dependientes se exponen realizaciones ventajosas de la invención.

15 De una manera conocida, por ejemplo de la publicación Mallard mencionada anteriormente, el fotodetector se divide en una pluralidad de píxeles. Estos píxeles forman, de manera conocida, unidades de detección en las que la señal eléctrica emitida por la transformación fotoeléctrica se puede detectar individualmente.

20 En este fotodetector dividido en píxeles, existe un problema particular en el contexto de la detección de la emisión de partículas diana.

25 De hecho, en el fotodetector de alto índice óptico, la señal emitida por la partícula diana de un medio de bajo índice óptico, y colocada en la interfaz con el fotodetector de alto índice óptico, tiene lóbulos de emisión, de modo que la misma partícula genera una señal a la vez en varios píxeles del fotodetector. Por lo tanto, la señal detectada por un píxel no corresponde realmente a la señal emitida por una partícula diana. Este efecto dañino se conoce como "cross-talk" en inglés o diafonía.

30 Una realización de la invención tiene como objetivo reducir la diafonía en un fotodetector tal como se definió anteriormente y que comprende una pluralidad de píxeles.

35 Para ello, el fotodetector comprende una pluralidad de píxeles, y en el que dichos orificios tienen una dimensión más pequeña que el tamaño de los píxeles de dicha pluralidad de píxeles, y dicha máscara está dispuesta con respecto a dicho fotodetector de manera que cada uno de dichos al menos un orificio está posicionado frente a un píxel de dicha pluralidad de píxeles.

40 De esta manera, la señal emitida por una partícula diana injertada en la sonda en el orificio está confinada por el orificio y se dirige preferentemente en el píxel. Esto evita que las partículas diana emitan en múltiples píxeles. Por lo tanto, la diafonía entre píxeles adyacentes se reduce y los píxeles fotosensibles se aíslan efectivamente de las partículas diana libres que no se injertan en las sondas.

45 La mejora de la directividad de la señal es además particularmente ventajosa en el contexto de un fotodetector de acuerdo con esta realización, ya que esto también reduce la diafonía como se definió previamente.

Además, para mejorar el confinamiento en el orificio, dicha máscara es una película de metal perforada con orificios. Esto permite obtener la opacidad requerida para la máscara para la longitud de onda de emisión de la partícula diana.

50 Además, dicha partícula diana es capaz de emitir a dicha longitud de onda de emisión cuando es excitada por un haz de excitación emitido por medios de excitación y dicha superficie sensible es tal que es insensible a dicho haz de excitación.

55 Las partículas que se excitan ópticamente para emitir luz se llaman partículas fluorescentes. En el caso de tales partículas fluorescentes, la señal de excitación a menudo es molesta para la detección de la emisión de fluorescencia.

Gracias a la realización anterior, la señal de emisión no interfiere con la detección en el fotodetector, y no influye en el cálculo de la emisión detectada.

60 En este caso, la ranura se puede posicionar en la trayectoria del haz de excitación.

De acuerdo con una realización, la superficie sensible se hace insensible a la señal de emisión por medio de un filtro de bloqueo colocado entre dichos medios de excitación y dicha superficie sensible, estando dispuesto dicho filtro de bloqueo para bloquear las longitudes de onda de la señal de excitación.

65 De esta manera, solo se detecta la emisión de las partículas en el fotodetector, incluso si la excitación es necesaria para detectar la emisión.

En este caso, la ranura puede colocarse ventajosamente en la interfaz entre la zona opaca y el filtro de bloqueo.

Además, en un fotodetector conocido, por ejemplo en la publicación Mallard mencionada anteriormente, las sondas se distribuyen en la superficie del fotodetector y la medición de la señal detectada se realiza promediando la señal recibida en todas las sondas. Este efecto promedio general en una población grande, sin embargo, afecta la calidad de los resultados.

Para superar este inconveniente, de acuerdo con una realización de la invención, dicha máscara es tal que cada uno de dichos al menos un orificio puede recibir solo una sonda.

De esta manera, con orificios muy pequeños que contienen una sola sonda, es posible realizar mediciones en el régimen de emisión por moléculas individuales. De esta manera, se reduce así el efecto medio mencionado anteriormente.

La invención también se refiere a un biochip que comprende un dispositivo como se ha descrito anteriormente.

El bio-chip puede comprender al menos una sonda injertada en dicho fotodetector, estando situada dicha sonda en dicho al menos un orificio.

Según una realización, cada uno de dichos al menos un orificio comprende una única sonda.

El biochip también puede comprender al menos una partícula diana hibridada con dicha sonda.

La invención también se refiere a un procedimiento de detección de la emisión de una partícula diana en una longitud de onda de emisión que comprende las etapas que consisten en:

- proporcionar un dispositivo como se ha descrito anteriormente;
- posicionar dicha partícula en dicho al menos un orificio;
- detectar la emisión de dicha partícula utilizando dicho fotodetector.

El procedimiento también puede incluir etapas que consisten en:

- injertar al menos una sonda en dicho al menos un orificio;
- hibridar dicha partícula diana con dicha sonda para posicionar selectivamente dicha partícula diana en dicho orificio.

La invención se entenderá mejor por medio de la descripción detallada de al menos una realización a continuación con referencia a las figuras adjuntas en las que:

- La figura 1 representa una vista en sección lateral de un dispositivo para la detección de la emisión de una partícula diana;
- La figura 2 representa una vista desde arriba del dispositivo de la figura 1;
- La figura 3 representa una vista en sección lateral de una realización particular del dispositivo de la invención;
- La figura 4 representa una vista fotográfica desde arriba de las ranuras utilizadas en la realización de la figura 3;
- La figura 5 representa una vista esquemática de la vista fotográfica de la figura 4;
- La figura 6 a la figura 8 representan vistas en sección lateral de realizaciones particulares del dispositivo de la invención;
- La figura 9 representa una vista desde arriba de una realización particular del dispositivo de la figura 1.

En las figuras, referencias idénticas representan elementos técnicos similares.

La figura 1 ilustra un dispositivo 1 adecuado para detectar la emisión de una partícula 6.

La partícula 6 puede ser cualquier partícula capaz de emitir luz y en particular una partícula fluorescente, que requiere excitación para emitir luz, o una partícula quimioluminiscente o bioluminiscente que no requiere excitación óptica para emitir luz. La emisión de luz puede deberse a la emisividad térmica. En el caso de una partícula fluorescente, la fluorescencia puede ser una fluorescencia paramétrica de tipo Rayleigh o Hyper-Rayleigh, o una fluorescencia vibratoria de tipo Raman espontánea o estimulada.

El dispositivo 1 comprende un fotodetector 2, que tiene una superficie superior 9 transparente a la luz emitida por las partículas 6. Las sondas 7A, 7B pueden fijarse en la superficie superior 9 mediante injerto. En el contexto de las pruebas biológicas, por ejemplo para chips de ADN, las sondas 7A, 7B son moléculas injertadas en la superficie superior 9. Mediante hibridación, las partículas diana 6 se asocian selectivamente con las sondas 7A, 7B. La emisión de las partículas diana 6 hibridadas selectivamente se puede usar para caracterizar las partículas diana 6. De una manera conocida, por ejemplo para chips de ADN, por lo tanto, se realizan las etapas de injerto de las sondas 7A,

7B, hibridación de las partículas 6, enjuague para retener solo las partículas hibridadas selectivamente y observación de la luz emitida por las partículas 6 hibridadas selectivamente.

En el contexto de la invención, las etapas de injerto e hibridación pueden llevarse a cabo por métodos conocidos. Además, a continuación se describe un dispositivo que comprende sondas injertadas cerca de la superficie sensible del fotodetector y partículas hibridadas con la sonda, pero se entiende que es posible utilizar el dispositivo independientemente de las sondas, pudiendo venderse los dispositivos de detección con o sin sondas injertadas. El dispositivo 1 comprende una máscara 3 que cubre el fotodetector 2 en su superficie superior 9. La máscara 3 comprende orificios 5 y zonas opacas 4. Las zonas opacas 4 son opacas a la radiación emitida por las partículas diana 6. Para lograr esta opacidad, la máscara 3 es, por ejemplo, una película metálica de oro o aluminio, es decir, las zonas opacas 4 son metálicas, de oro o de aluminio. Los orificios 5 pueden recibir las sondas 7A, 7B y dejarlas dentro del medio de análisis 13. La película metálica perforada con los orificios 5 se deposita en el fotodetector 2. La opacidad de la película metálica 3 en la longitud de onda de la emisión de las partículas 6 se puede lograr mediante la elección apropiada del espesor de la película.

El fotodetector 2 es, por ejemplo, un semiconductor del tipo CMOS o CCD. La estructura del fotodetector 2 corresponde, por ejemplo, a un dispositivo llamado APS, un acrónimo de "Active Pixel Sensor" que tiene un área activa de silicio. La detección también se puede realizar mediante amplificación óptica o amplificación electrónica por avalancha o en cascada. En la figura 1, solo se muestra una zona activa del fotodetector 2. Se entiende que otros elementos no activos pueden completar el fotodetector 2.

La zona activa 2 de silicio del fotodetector 2 tiene un índice óptico de aproximadamente 3,5, que es mayor que el índice óptico del medio de análisis 13. Este último tiene, por ejemplo, un índice óptico del orden de 1,33 como el del agua a 20 °C, o un índice de aproximadamente 1 para el aire. Este medio de análisis es conocido en el campo de la hibridación y la detección de la emisión de las partículas diana.

Cuando las partículas diana 6 se fijan en las sondas 7A, 7B, el efecto de esta diferencia de índice óptico es permitir una detección satisfactoria en el fotodetector 2, por emisión de una señal en el fotodetector 2. Las leyes de Snell-Descartes o la teoría del electromagnetismo permiten confirmar esta afirmación.

Durante la emisión de las partículas diana 6, la zona opaca 4 permite confinar la señal 8 emitida hacia el fotodetector 2, para mejorar la detección.

El fotodetector 2 se puede dividir en píxeles 2A, 2B correspondientes a unidades de detección separadas. El fotodetector APS como se mencionó anteriormente comprende, por ejemplo, una matriz de 640 × 480 píxeles que tiene un tamaño de 5,6 micrómetros por 5,6 micrómetros.

Los orificios 5 de la máscara 3 se colocan ventajosamente sobre cada uno de los píxeles y tienen dimensiones más pequeñas que las de los píxeles.

En el caso de las dimensiones de píxeles mencionadas anteriormente, los orificios tienen, por ejemplo, dimensiones del orden de unos cientos de nanómetros por unos cientos de nanómetros. La máscara 3 es en este caso una película de metal perforada con nano-orificios 5.

Las zonas opacas 4 de la película 3 confinan la emisión de las partículas diana 6 a cada uno de los píxeles. La señal 8 emitida por una partícula hacia un píxel se desvía poco hacia el píxel adyacente, de modo que se reduce la interferencia entre los píxeles.

En la figura 2 se ilustra una vista desde arriba del dispositivo 1. Se muestra la máscara metálica 3, que cubre el fotodetector 2. La máscara 3 comprende los orificios 5 y las zonas opacas 4. La estructura de las zonas opacas 4 se describirá con más detalle más adelante en una realización particular de la invención.

La figura 3 es una vista lateral del dispositivo 1 según una realización particular de la invención, en una primera configuración. En la figura 3, la partícula 6, hibridada con una sonda 7A es una partícula fluorescente, excitada por un láser de excitación 14 que emite un haz de excitación 11, pero se entiende que la realización que se describirá puede ser idéntica en el caso de una partícula bioluminiscente o quimioluminiscente. En el caso de la excitación por un haz de excitación 11, la película metálica 3 es preferiblemente también opaca a las longitudes de onda del haz de excitación.

En la figura 3, las zonas opacas 4 comprenden una ranura 10 formada por zonas bajas 10B y zonas altas 10A. La ranura 10 forma preferiblemente una ondulación circular alrededor del orificio 5. Las áreas altas 10A pueden tener una forma de almena como en la figura 3, pero también otra forma, como por ejemplo una forma sinusoidal o triangular. Las áreas altas y bajas 10A y 10B pueden disponerse en un espaciado de progresión lineal o no lineal.

La ranura 10 se coloca en la superficie superior de la zona opaca 4 en oposición a la superficie lateral de la zona opaca que forma el orificio 5.

De acuerdo con esta realización, el haz de excitación 11 es interceptado por la ranura 10. La ranura 10 está posicionada en la interfaz entre el medio de análisis 13 y la zona opaca 4. La ranura 10 genera así un modo mediante acoplamiento del tipo plasmónico entre el medio de análisis 13 en contacto con la ranura, la zona opaca 4, que confina el haz de excitación 11 hacia la partícula 6. Este fenómeno de confinamiento se ilustra mediante las flechas oblicuas 11A en la figura 3. La eficiencia de la excitación se mejora así en esta realización. Esta realización es, por lo tanto, particularmente ventajosa en el caso de una partícula fluorescente para mejorar la calidad de la excitación.

Además, al igual que antes, la zona opaca 4 también confina la luz emitida hacia el fotodetector 2. El conjunto mejora así la eficiencia de la excitación y la emisión y, por lo tanto, la calidad global de la detección de acuerdo con la invención.

La figura 4 representa una representación fotográfica de la ranura 10 en la que se reconoce el orificio 5, rodeado por una sucesión de zonas altas 10A y zonas bajas 10B. La ranura se forma en la superficie de la zona opaca 4.

La figura 5 es una representación esquemática de la ranura 10 en la que se reconoce el orificio 5, rodeado por una sucesión de zonas altas 10A y zonas bajas 10B. La ranura está formada en la superficie superior 12A de la zona opaca 4.

Se proporciona un ejemplo de dimensionamiento de la máscara 3 que comprende la ranura 10, entendiéndose que este dimensionamiento no es de ninguna manera limitante dentro del alcance de la invención. La longitud de onda emitida por la partícula 6 es del orden de 500 nanómetros. El orificio 5 es, por ejemplo, circular con un diámetro de 150 a 200 nanómetros. La altura de la máscara 3 es mayor que la altura de la sonda 7A, 7B, de modo que la zona opaca 4 enmascara la luz emitida por la partícula 6 cuando se fija a la sonda 7A, 7B. La zona opaca 4, o equivalentemente, el orificio 5, tiene una altura de aproximadamente 200 nanómetros. La ranura 10, es decir, las zonas altas 10A, o equivalentemente las zonas bajas 10B, tiene una altura de aproximadamente 50 nanómetros. El paso que separa las zonas altas de las zonas bajas es de aproximadamente 80 nanómetros.

La figura 6 ilustra otra configuración del dispositivo 1 de acuerdo con la invención en la que la ranura 10 está situada en la interfaz entre la zona opaca 4 y la superficie superior 9 del fotodetector 2, en la superficie inferior 12B de la zona opaca 4. La ranura 10 comprende, como anteriormente, zonas altas 10A y zonas bajas 10B. Esta vez, es especialmente la directividad de la luz emitida por la partícula 6 la que mejora. Esto es válido tanto si la partícula 6 está excitada como no. De acuerdo con esta realización, el efecto de acoplamiento plasmónico por la ranura 10, entre la zona opaca 4 y el medio de análisis 13 en el orificio 5, permite un mejor confinamiento de la luz y una mayor directividad hacia el fotodetector 2, y en particular hacia el píxel 2A del fotodetector colocado debajo del orificio 5.

La figura 7 ilustra, las dos realizaciones descritas anteriormente que se pueden combinar para mejorar tanto la directividad de la luz emitida por la partícula 6, como la directividad de la excitación por el haz de excitación 11. En este caso, una primera ranura 10 se coloca en la interfaz entre la zona opaca 4 y el medio de análisis 13, y una segunda ranura 10 se coloca en la interfaz entre la zona opaca 4 y la superficie superior 9 del fotodetector 2. La superficie superior 12A y la superficie inferior 12B de la zona opaca 4 comprenden, por lo tanto, una ranura que forma una ondulación circular alrededor del orificio 5.

La figura 8 ilustra una realización particular de la invención en la que el dispositivo 1 comprende un filtro de bloqueo 15. Este filtro de bloqueo 15 es capaz de filtrar la longitud de onda o el rango de longitud de onda del haz de excitación 11 para no perturbar la detección de la luz emitida por la partícula 6, cuando se encuentra en una longitud de onda diferente. El filtro de bloqueo 15 puede formar la superficie superior del fotodetector 2 como en la figura 8, o se puede colocar en contacto con esta superficie superior 9 o incluso incluirse en el fotodetector 2.

De forma alternativa, para no perturbar la detección de la luz emitida por la partícula 6, el propio fotodetector 2 se elige para que sea insensible a la longitud de onda o al rango de longitud de onda del haz de excitación 11.

La figura 9 ilustra una vista desde arriba de una realización del dispositivo 1 en el que se ha ilustrado mediante líneas discontinuas la matriz de píxeles 2A, 2B del fotodetector 2 sobre el que se ha colocado la máscara 3. Ventajosamente, la máscara 3 es tal que un solo orificio 5 está colocado con respecto a cada píxel 2A, 2B. De esta manera, se reduce la diafonía entre los píxeles adyacentes.

Además, el tamaño de los orificios 5 puede ser tal que solo se posicione una sonda en el orificio 5 durante el injerto. De esta manera, la luz detectada por un píxel corresponde sustancialmente a la luz emitida por una sola partícula, lo que hace posible superar los efectos del promediado.

Todas las realizaciones descritas anteriormente pueden aplicarse a una configuración tal en la que el fotodetector 2 comprende una pluralidad de píxeles correspondientes a una pluralidad de fotodetectores en paralelo. En particular, las realizaciones en las que la máscara 3 comprende ranuras 10 pueden usarse ventajosamente para una matriz de píxeles con el fin de reducir la diafonía entre los píxeles.

Dicha matriz de píxeles puede funcionar en un modo continuo en el que la señal óptica emitida por las partículas diana 6 se detecta integrando la señal para cada píxel, o grupo de píxeles, del fotodetector 2. También es posible realizar mediciones fotométricas.

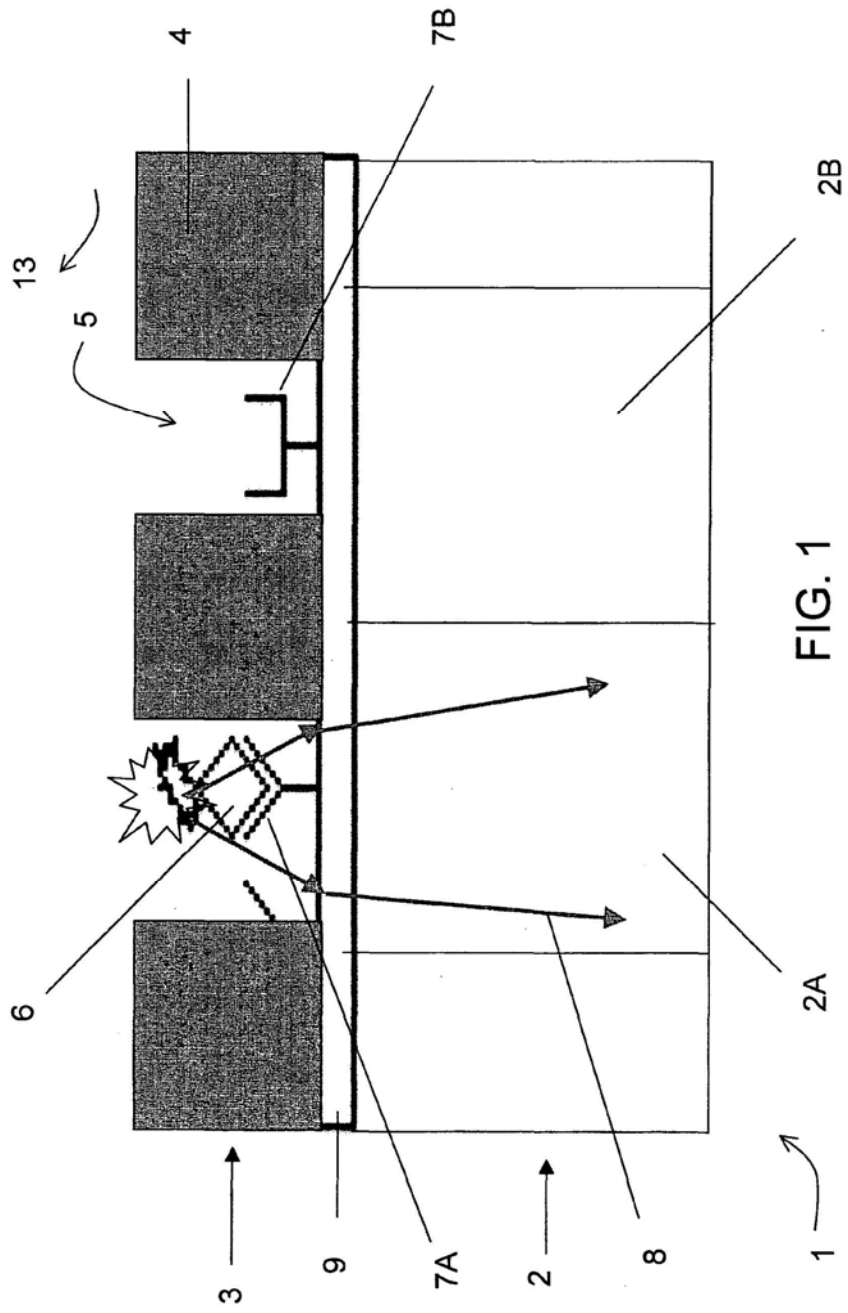
- 5 La matriz de píxeles también puede funcionar en modo pulsado en el que la señal se integra en intervalos de tiempo cortos frente al tiempo característico del fenómeno a estudiar. El análisis de traza resultante proporciona información sobre la asociación molecular que se va a estudiar. Este modo de operación se usa, por ejemplo, en el caso de la espectroscopia de correlación de fluorescencia, de las imágenes de tiempo de vida de fluorescencia o de la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia.
- 10 El dispositivo 1 como se describió anteriormente se puede usar ventajosamente como un detector en un bio-chip, por ejemplo, un biochip de ADN o proteína. En este caso, el bio-chip comprende sondas 7A, 7B injertadas en los orificios 5 para recibir las partículas diana 6.
- 15 También se puede utilizar como detector de presencia bacteriana, por ejemplo, para pruebas de alimentos.

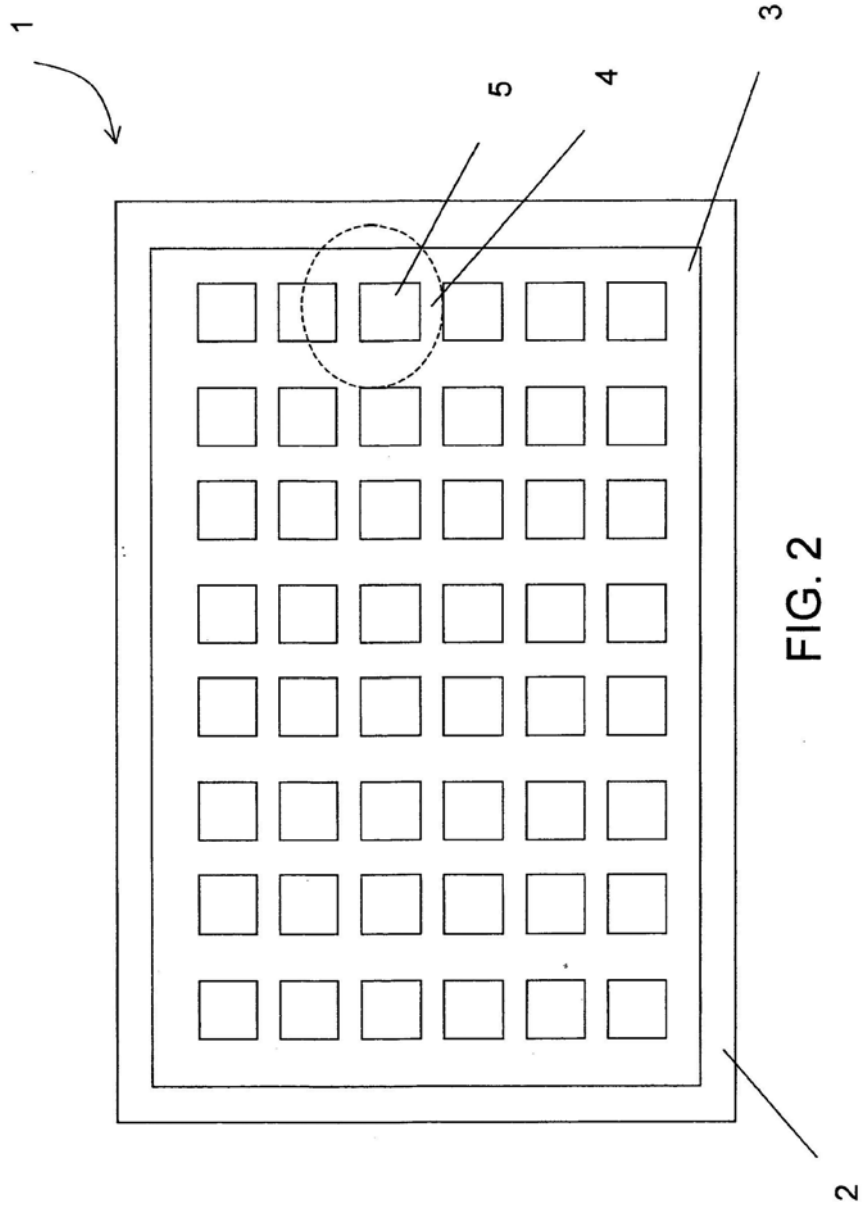
REIVINDICACIONES

- 5 1. Dispositivo (1) para la detección de la emisión de una partícula diana (6) en una longitud de onda de emisión, comprendiendo dicho dispositivo:
- un fotodetector (2, 2A, 2B) que comprende una superficie de detección sensible que tiene un alto índice óptico;
 - dicha partícula diana (6) puede estar situada cerca de dicha superficie sensible en un medio de análisis (13) que tiene un bajo índice óptico para la detección de campo cercano de la emisión de la partícula diana;
- 10 comprendiendo dicho dispositivo además:
- una máscara metálica (3) que cubre dicha superficie sensible;
 - dicha máscara comprende al menos una zona opaca (4) en dicha longitud de onda de emisión y al menos un orificio (5) con un diámetro menor que la longitud de onda de emisión de la partícula diana (6);
 - dicho orificio es capaz de recibir dicha partícula diana,
- 15 comprendiendo dicha máscara interfaces con el medio de análisis y con dicha superficie sensible, en donde dicha al menos una zona opaca de dicha máscara comprende al menos una ranura (10, 10A, 10B) colocada al nivel de al menos una de dichas interfaces, rodeando cada una de dichas al menos una ranura cada uno de dichos al menos un orificio.
- 20 2. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que dicha ranura está situada en la interfaz entre dicha zona opaca y dicho medio de análisis.
- 25 3. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que dicha ranura está situada en la interfaz entre dicha zona opaca y una superficie de dicho fotodetector.
- 30 4. Dispositivo según una de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho fotodetector comprende una pluralidad de píxeles (2A, 2B) y en el que dicho al menos un orificio (5) tiene una dimensión menor que la dimensión de los píxeles de dicha pluralidad de píxeles y dicha máscara está dispuesta con respecto a dicho fotodetector de manera que cada uno de dichos al menos un orificio está colocado frente a un píxel de dicha pluralidad de píxeles.
- 35 5. Dispositivo según una de las reivindicaciones anteriores, en el que dicha partícula diana es capaz de emitir a dicha longitud de onda de emisión cuando es excitada por un haz de excitación (11) emitido por medios de excitación (14) y dicha superficie sensible es tal que es insensible a dicho haz de excitación.
- 40 6. Dispositivo según la reivindicación 5, en el que dicha ranura está situada en la trayectoria de dicho haz de excitación.
- 45 7. Dispositivo según una de las reivindicaciones 5 o 6 anteriores, en el que dicho dispositivo comprende un filtro de bloqueo (15) situado entre dichos medios de excitación y dicha superficie sensible, estando dispuesto dicho filtro de bloqueo para bloquear la longitud de onda del haz de excitación.
- 50 8. Dispositivo según la reivindicación anterior, en el que dicha ranura está situada en la interfaz entre dicha zona opaca y dicho filtro de bloqueo.
- 55 9. Dispositivo según una de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho fotodetector es un semiconductor de silicio.
- 60 10. Bio-chip que comprende un dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores.
- 65 11. Bio-chip según la reivindicación 10, que comprende al menos una sonda injertada en dicho fotodetector, estando dicha sonda situada en dicho al menos un orificio.
12. Bio-chip según la reivindicación 11, en el que cada uno de dichos al menos un orificio comprende una única sonda.
13. Bio-chip según una de las reivindicaciones 11 a 12, que comprende al menos una partícula diana hibridada con dicha sonda.
14. Procedimiento de detección de la emisión de una partícula diana (6) en una longitud de onda de emisión que comprende etapas que consisten en:
- proporcionar un dispositivo según una de las reivindicaciones 1 a 9;
 - posicionar dicha partícula en dicho al menos un orificio;
 - detectar la emisión de dicha partícula utilizando dicho fotodetector.

15. Procedimiento de detección de la emisión de una partícula diana según la reivindicación anterior, que comprende etapas que consisten en:

- 5
- injertar al menos una sonda en dicho al menos un orificio;
 - hibridar dicha partícula diana en dicha sonda para situar dicha partícula diana en dicho orificio.





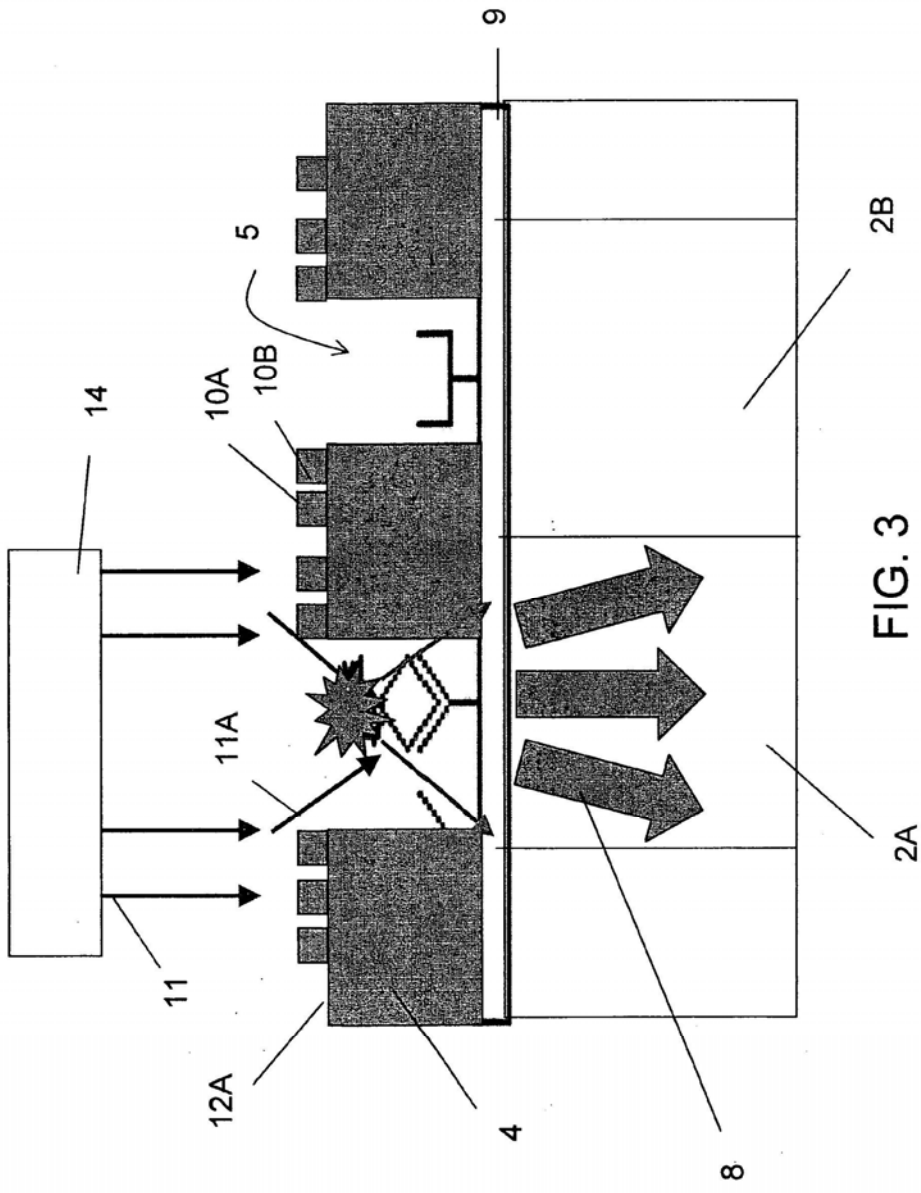


FIG. 3

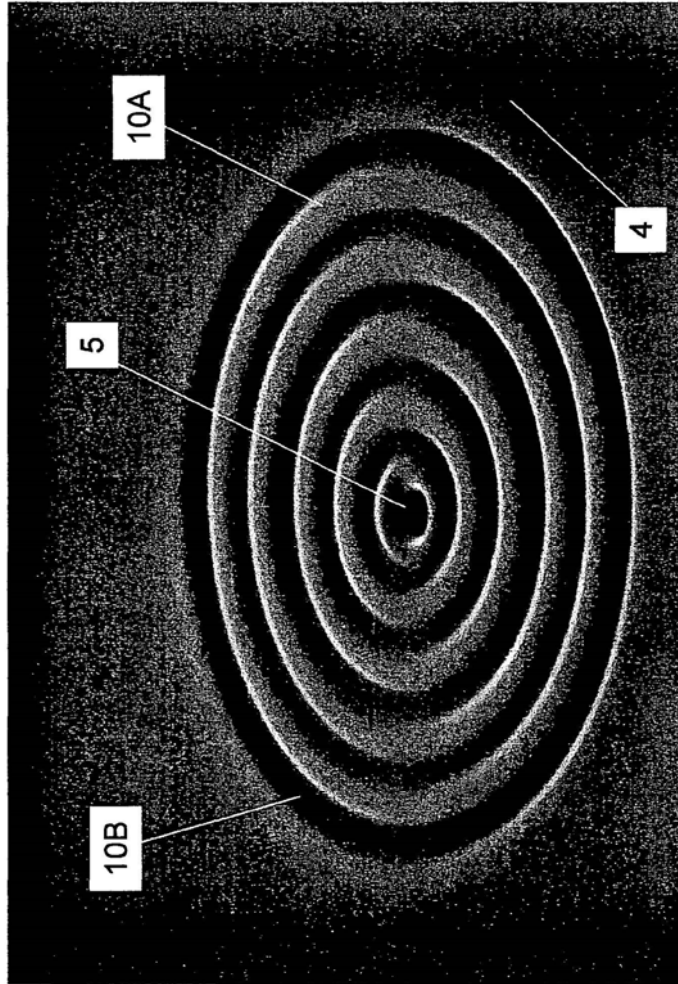


FIG. 4

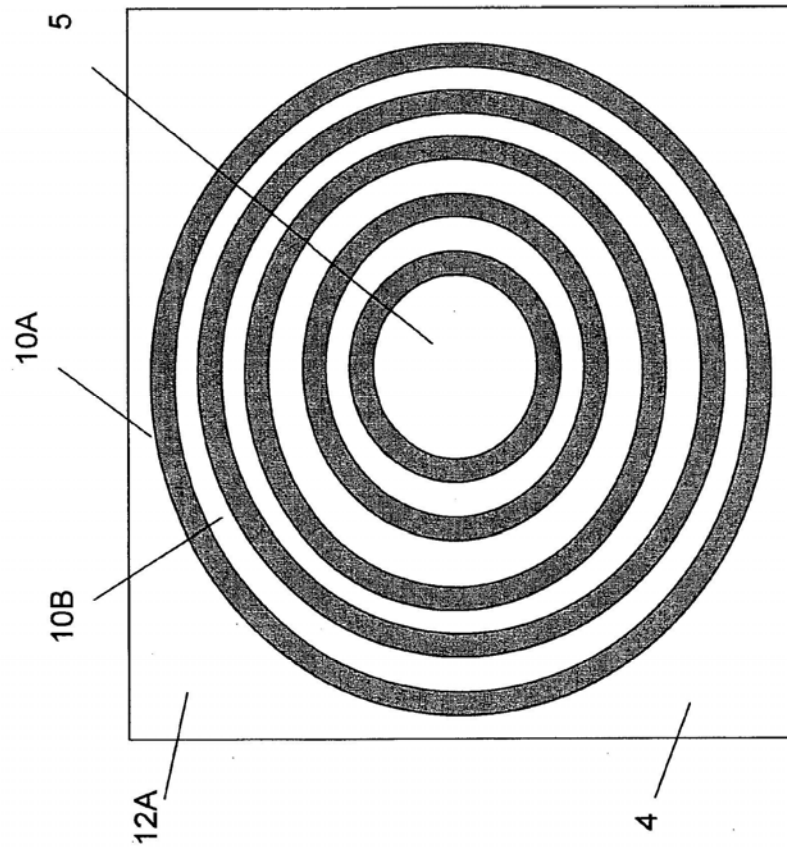
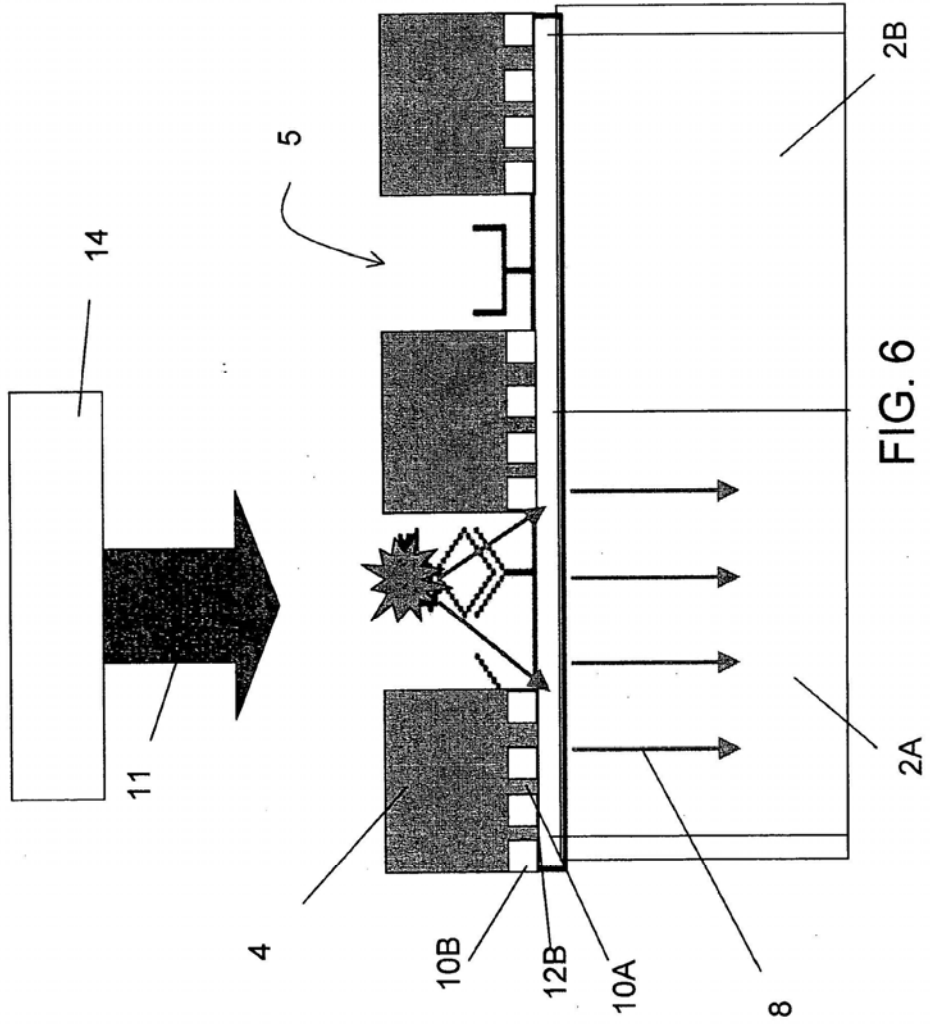


FIG. 5



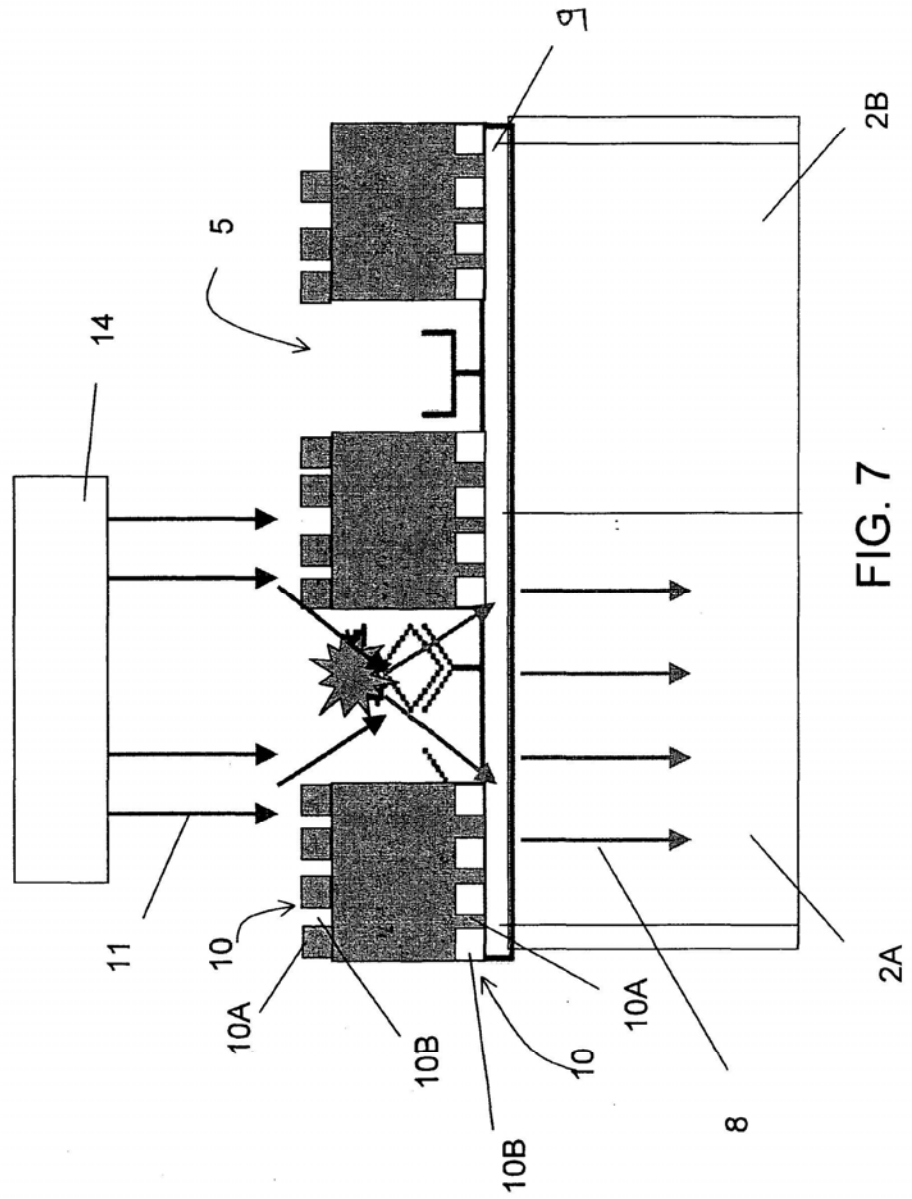


FIG. 7

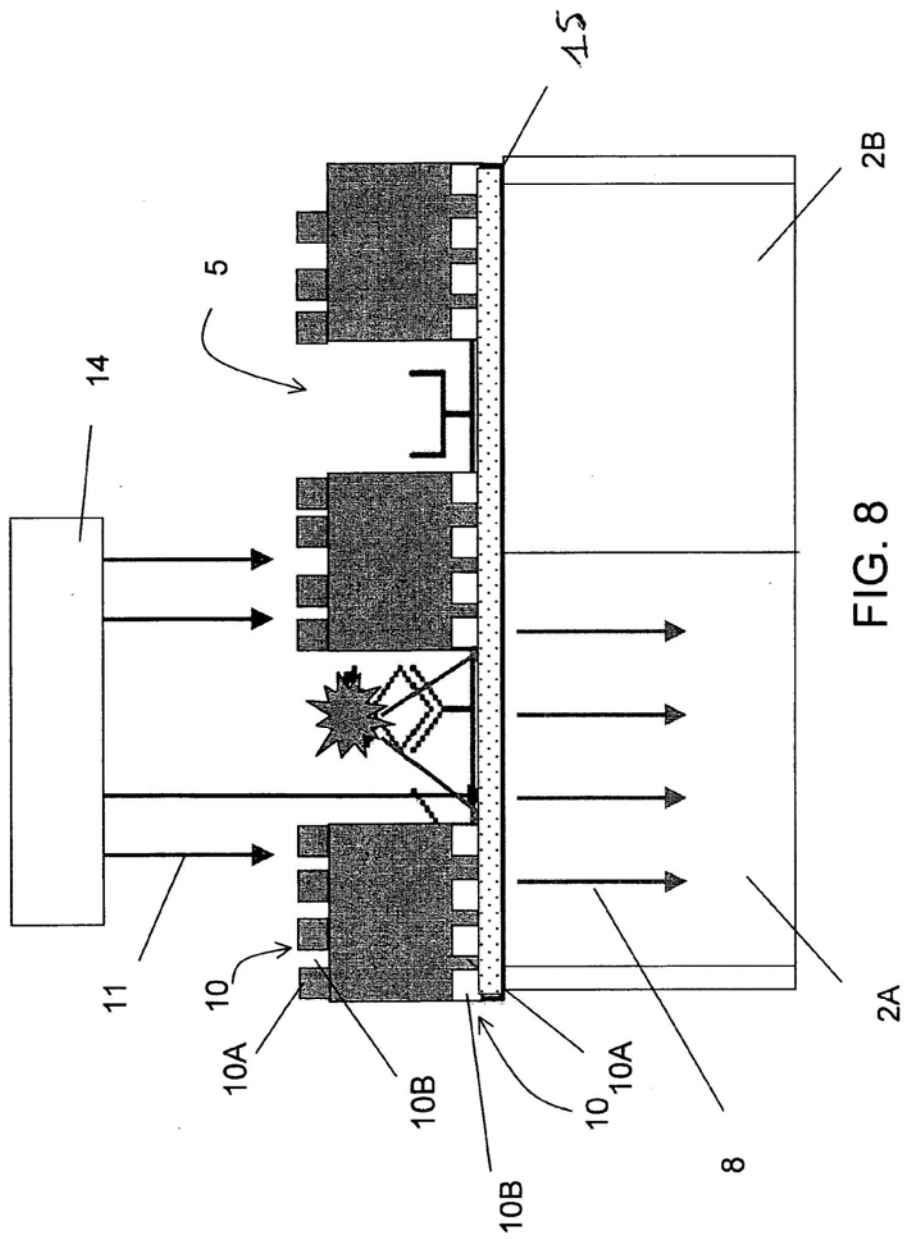


FIG. 8

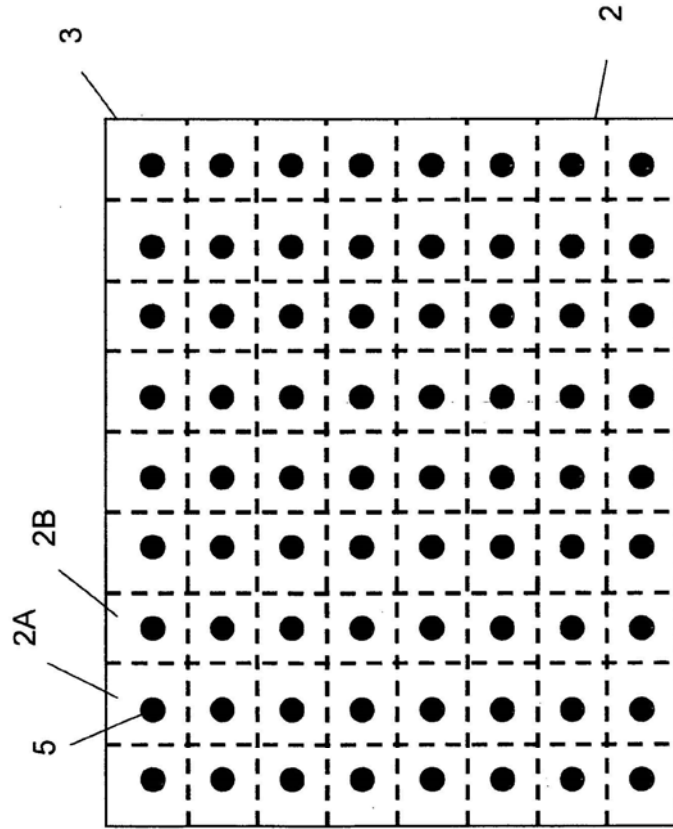


FIG. 9