

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 712 747**

51 Int. Cl.:

G01N 30/96 (2006.01)
G01N 33/48 (2006.01)
G01N 31/00 (2006.01)
G01N 29/24 (2006.01)
G01N 33/543 (2006.01)
G01N 29/036 (2006.01)
G01N 29/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.03.2014** **PCT/US2014/027743**
87 Fecha y número de publicación internacional: **18.09.2014** **WO14143680**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.03.2014** **E 14764974 (3)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.11.2018** **EP 2972295**

54 Título: **Resonador acústico de volumen de película delgada con mejora de señal**

30 Prioridad:

15.03.2013 US 201361790076 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.05.2019

73 Titular/es:

QORVO US, INC. (100.0%)
7628 Thorndike Road
Greensboro, NC 27409, US

72 Inventor/es:

SALVATI, MICHAEL y
HARMON, IAN

74 Agente/Representante:

RIZZO , Sergio

ES 2 712 747 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

Resonador acústico de volumen de película delgada con mejora de señal

CAMPO

- 5 **[0001]** La presente exposición se refiere en general a, entre otras cosas, la mejora de la señal de resonadores acústicos de volumen de película delgada (TFBAR, por sus siglas en inglés) mediante carga de masa mediada por elemento de amplificación.

ANTECEDENTES

- 10 **[0002]** Los dispositivos piezoeléctricos tales como los resonadores acústicos de volumen de película delgada (TFBAR) y tecnologías similares como las microbalanzas de cristal de cuarzo (QMC) se han empleado como detectores de masa durante algún tiempo. Una aplicación de los resonadores piezoeléctricos es la detección de cantidades muy pequeñas de materiales. Los resonadores piezoeléctricos utilizados como sensores en estas aplicaciones se denominan a veces «microbalanzas». Un resonador piezoeléctrico se construye normalmente como una capa plana y delgada de material piezoeléctrico cristalino o policristalino intercalado entre dos capas de electrodos. Cuando se utiliza como sensor, se expone el resonador al material que se está detectando para
15 permitir que el material se una sobre una superficie del resonador.

- 20 **[0003]** Una forma convencional de detectar la cantidad del material unido sobre la superficie de un resonador de detección es hacer funcionar el resonador como un oscilador en su frecuencia resonante. Puesto que el material que se está detectando se une sobre la superficie del resonador, se reduce la frecuencia de oscilación del resonador. El cambio en la frecuencia de oscilación del resonador, supuestamente causado por la unión del material sobre la superficie del resonador, se mide y se utiliza para calcular la cantidad del material unido sobre el resonador o el índice al que se acumula el material sobre la superficie del resonador.

- 25 **[0004]** La sensibilidad de un resonador piezoeléctrico en el aire como sensor de materiales es teóricamente proporcional al cuadrado de la frecuencia de resonancia. Por tanto, las sensibilidades de los sensores de materiales basadas en los resonadores de cristal de cuarzo populares están limitadas por sus frecuencias oscilantes relativamente bajas, que normalmente oscilan desde varios MHz hasta aproximadamente 100 MHz. El desarrollo de la tecnología del resonador de película delgada (TRF, por sus siglas en inglés) puede producir potencialmente sensores con sensibilidades considerablemente mejoradas. Un resonador de película delgada se forma depositando una película delgada de material piezoeléctrico, tal como AlN o ZnO, sobre un sustrato. Debido al reducido grosor de la capa piezoeléctrica en un resonador de película delgada, que se encuentra en el
30 orden de varias micras, la frecuencia resonante del resonador de película delgada se encuentra en el orden de 1 GHz. Las altas frecuencias resonantes y las correspondientes altas sensibilidades hacen útiles los resonadores de película delgada para aplicaciones de detección de materiales. Sin embargo, la sensibilidad a las masas de incluso los resonadores de película delgada puede estar limitada para la detección de determinados analitos, tales como analitos biológicos. El uso de sensores de resonador piezoeléctrico en inmunoensayos se ha descrito
35 previamente. En general, los inmunoensayos con base piezoeléctrica, en los que el cambio de masa es atribuible a la reacción inmunológica entre un antígeno y un anticuerpo, pueden en determinadas circunstancias sufrir una escasa sensibilidad y un límite de detección pobre. En consecuencia, en la técnica se necesita un ensayo de unión específica con base piezoeléctrica en el que se pueda amplificar la reacción entre un componente de reconocimiento molecular y su analito objetivo para proporcionar un ensayo más sensible.

- 40 **[0005]** Se presenta un ejemplo de este tipo en la patente estadounidense n.º 4,999,284 concedida a Ward el 12 de marzo de 1991, que da a conocer un método que utiliza un ensayo de microbalanza de cristal de cuarzo, en el que la unión del analito a una superficie sobre una microbalanza de cristal de cuarzo (QCM, por sus siglas en inglés) o cerca de la misma se detecta mediante un conjugado que incluye una enzima. La enzima es capaz de catalizar la conversión de un sustrato en un producto capaz de acumularse sobre una superficie del QCM o de
45 reaccionar con la misma dando lugar a un cambio de masa y, por consiguiente, a un cambio en la frecuencia resonante.

[0006] US 2009/0170119 da a conocer un método para amplificar una variación de frecuencia de una señal detectada en un biosensor tal como un FBAR. US 2012/0164753 da a conocer TFBAR que presentan frecuencias de resonancia en el intervalo de 500 MHz a 2 GHz.

SUMARIO

[0007] La presente exposición describe, entre otras cosas, una amplificación de señal para mejorar la sensibilidad del TFBAR que funciona a una frecuencia alta.

- 55 **[0008]** En los modos de realización, se da a conocer un método para la detección de un analito en una muestra según la reivindicación 1. Dicho método incluye poner en contacto un analito o un analito y una molécula de analito unido por marcador, un primer componente de reconocimiento, y un segundo componente de reconocimiento unido a un elemento de amplificación de señal para generar un complejo que comprende el

primer componente de reconocimiento y el segundo componente de reconocimiento unido al elemento de amplificación de señal. El primer componente de reconocimiento está inmovilizado con respecto a una superficie de un resonador acústico de volumen de película delgada (TFBAR) y está configurado para unir de forma selectiva uno o más de entre el analito, la molécula de analito a la que se une el marcador o el marcador, o cualquiera de estas moléculas que se unen al segundo componente de reconocimiento. El segundo componente de reconocimiento unido al elemento de amplificación de señal está configurado para unir de forma selectiva uno o más de entre el analito, la molécula de analito a la que se une el marcador, o el marcador, o cualquiera de estas moléculas que se unen al primer componente de reconocimiento, o una combinación de los mismos. El método incluye además poner en contacto el elemento de amplificación de señal unido con uno o más precursores de amplificación en condiciones para convertir los precursores en moléculas de amplificación que añaden masa en una superficie del TFBAR. La masa añadida puede resultar de la deposición de la molécula de amplificación sobre la superficie; la unión de la molécula de amplificación a uno o más de entre el analito, la molécula de analito unido por marcador, el primer componente de reconocimiento o el segundo componente de reconocimiento unido a un elemento de amplificación; o similares. El método también incluye la obtención de una medida de la masa (p. ej., masa de analito, segundo componente de reconocimiento unido a un elemento de amplificación de señal y molécula de amplificación) añadida en la superficie del TFBAR.

[0009] El analito o el analito y la molécula de analito unido por marcador, el primer componente de reconocimiento y el segundo componente de reconocimiento unido a un elemento de amplificación de señal pueden ponerse en contacto en cualquier orden adecuado. Por ejemplo, el analito o el analito y la molécula de analito unido por marcador se pueden poner en contacto con el segundo componente de reconocimiento unido al elemento de amplificación de señal antes de ponerse en contacto con el primer componente de reconocimiento inmovilizado con respecto a la superficie del TFBAR. Como ejemplo adicional, el analito o el analito y la molécula de analito unido por marcador se pueden poner en contacto con el primer componente de reconocimiento antes de ponerse en contacto con el segundo componente de reconocimiento unido a un elemento de amplificación de señal. Como otro ejemplo adicional, el analito o la molécula de analito unido por marcador, el primer componente de reconocimiento y el segundo componente de reconocimiento unido a un elemento de amplificación de señal pueden ponerse en contacto de forma simultánea. La masa añadida en la superficie del TFBAR se puede medir mediante cualquier proceso adecuado. En los modos de realización, la masa se mide mediante las siguientes etapas: (i) acoplar una señal eléctrica de entrada al TFBAR, presentando la señal eléctrica de entrada una fase y presentando una frecuencia dentro de una banda de resonancia del resonador piezoeléctrico, donde la frecuencia es aproximadamente 1,8 GHz o superior (tal como aproximadamente 2 GHz o superior, aproximadamente 2,2 GHz o superior, aproximadamente 2,4 GHz o superior, aproximadamente 2,5 GHz o superior, desde aproximadamente 2 GHz hasta aproximadamente 2,5 GHz); (ii) transmitir la señal eléctrica de entrada a través del TFBAR para generar una señal eléctrica de salida que presenta una frecuencia y una fase; (iii) recibir la señal eléctrica de salida procedente del TFBAR; y (iv) determinar un cambio de frecuencia o fase de la señal eléctrica de salida ocasionado por la masa añadida en la superficie del TFBAR, donde el cambio de frecuencia de fase sirve como medida de la masa añadida en la superficie del TFBAR.

[0010] También se dan a conocer un sistema según la reivindicación 12 y un kit según la reivindicación 13.

Uno o más modos de realización de los aparatos, sistemas o métodos descritos en el presente documento proporcionan una o más ventajas con respecto a los sensores, dispositivos, sistemas o métodos anteriores para detectar pequeñas cantidades de un analito. Como se ha descrito anteriormente, a frecuencias más altas se observó sorprendentemente una mayor amplificación de señal de TFBAR con una carga de masa mediada por elemento de amplificación que a frecuencias más bajas. Por consiguiente, las ventajas de las frecuencias más altas parece que se mejoran aún más al emplearse en combinación con amplificación de señal. Los expertos en la materia entenderán fácilmente estas y otras ventajas a partir de la siguiente descripción detallada.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0011]

Las **figuras 1A-1C** son diagramas esquemáticos que ilustran los principios operativos de los modos de realización de los dispositivos de detección de resonador acústico de volumen de película delgada (TFBAR).

La **figura 2** es un diagrama esquemático que muestra componentes de un sistema TFBAR para detectar un analito.

Las **figuras 3A-D** son dibujos esquemáticos que ilustran un modo de realización de amplificación de señal sobre una superficie de un resonador de película delgada (TFR).

La **figura 4A** es una gráfica de respuesta con respecto a tiempo de unión de analito directa y unión de analito amplificada con enzima sobre un modo de realización de un TFBAR.

La **figura 4B** es una gráfica que muestra detalles de una parte de la gráfica presentada en la **figura 4A**.

- [0012] Los dibujos esquemáticos no están necesariamente a escala. Los números iguales utilizados en las figuras se refieren a los mismos componentes, etapas y demás. Sin embargo, se entenderá que el uso de un número para referirse a un componente en una figura dada no pretende limitar el componente en otra figura marcado con el mismo número. Además, el uso de números diferentes para referirse a componentes no pretende
- 5 indicar que los componentes con números distintos no puedan ser el mismo componente o uno similar.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

- [0013] En la siguiente descripción detallada se dan a conocer varios modos de realización específicos de compuestos, composiciones, productos y métodos. Ha de entenderse que se contemplan y se pueden realizar otros modos de realización sin alejarse del alcance de la presente exposición. Por tanto, la siguiente descripción
- 10 detallada no ha de tomarse en un sentido limitativo. La exposición se refiere en general a, entre otras cosas, métodos, dispositivos, sensores y sistemas para detectar un analito. Los métodos, dispositivos, sensores y sistemas utilizan un resonador acústico de volumen de película delgada (TFBAR) que mide un cambio de frecuencia o fase del resonador causado por la unión del analito sobre una superficie del resonador. La señal de unión se mejora a través de una carga de masa mediada por elemento de amplificación. Una señal eléctrica de
- 15 entrada que presenta una fase y presenta una frecuencia dentro de una banda de resonancia del resonador piezoeléctrico, que en el caso de algunos modos de realización de la presente exposición puede ser de aproximadamente 500 MHz o superior, tal como aproximadamente 1,5 GHz o superior, se acopla al resonador y se transmite a través del mismo para generar una señal eléctrica de salida que presenta un desplazamiento de frecuencia o de fase desde la señal de entrada debido a la unión, deposición, etc. del material que se está
- 20 detectando sobre la superficie del resonador y amplificación debido a la carga de masa mediada por elemento de amplificación. La señal eléctrica de salida recibida del resonador piezoeléctrico se analiza para determinar el cambio de frecuencia o fase causado por la unión de analito y la deposición de masa mediada por elemento de amplificación sobre la superficie del resonador. El cambio de frecuencia o fase medido proporciona información cuantitativa sobre el analito (o molécula de analito unido por marcador) unido a la superficie del resonador.

25 Sensores, dispositivos y sistemas

- [0014] Los sensores dados a conocer en el presente documento incluyen al menos un sensor resonador de película delgada, tal como un sensor resonador acústico de volumen de película delgada (TFBAR). Un sensor TFBAR incluye una capa piezoeléctrica, o un sustrato piezoeléctrico, y un transductor de entrada y de salida. Los
- 30 sensores TFBAR son sensores pequeños que hacen la tecnología adecuada para utilizarse en dispositivos portátiles. Por consiguiente, se contempla un dispositivo portátil para detectar analitos objetivo que comprende un sensor descrito en el presente documento.

- [0015] Volviendo ahora a los dibujos con referencia a las **figuras 1A y 1B**, se muestran los principios operativos generales de un modo de realización de un resonador piezoeléctrico de onda acústica de volumen **20** utilizado como sensor para detectar un analito. El resonador **20** incluye normalmente una capa plana de material
- 35 piezoeléctrico unida sobre lados opuestos mediante dos capas de metal respectivas que forman los electrodos del resonador. Las dos superficies del resonador pueden experimentar movimiento vibratorio cuando se acciona el resonador mediante una señal dentro de la banda de resonancia del resonador. Cuando se utiliza el resonador como sensor, al menos una de sus superficies se adapta para proporcionar sitios de unión para el material que se está detectando. La unión del material sobre la superficie del resonador altera las características de resonancia del resonador, y se detectan y se interpretan los cambios en las características de resonancia para proporcionar información cuantitativa sobre el material que se está detectando.
- 40

- [0016] A modo de ejemplo, esta información cuantitativa se puede obtener detectando un cambio en el desplazamiento de fase del coeficiente de reflexión o inserción del resonador causado por la unión del material que se está detectando sobre la superficie del resonador. Estos sensores difieren de los que hacen funcionar el
- 45 resonador como un oscilador y monitorizan los cambios en la frecuencia de oscilación. En su lugar, estos sensores insertan el resonador en la trayectoria de una señal de una frecuencia preseleccionada y monitorizan la variación del desplazamiento de fase del coeficiente de reflexión o inserción causado por la unión del material que se está detectando sobre la superficie del resonador. Por supuesto, los sensores que monitorizan cambios en la frecuencia de oscilación también pueden emplearse según la amplificación de señal descrita en el presente
- 50 documento.

- [0017] Con más detalle, la **figura 1A** muestra el resonador **20** antes de que el material que se está detectando se una a su superficie **26**. El resonador representado **20** se acopla eléctricamente a una fuente de señal **22**, que proporciona una señal eléctrica de entrada **21** que presenta una frecuencia **f** dentro de la banda de resonancia del resonador. La señal eléctrica de entrada se acopla al resonador **20** y se transmite a través del resonador para proporcionar una señal eléctrica de salida **23**. En el modo de realización representado, la señal eléctrica de
- 55 salida **23** se encuentra a la misma frecuencia que la señal de entrada **21**, pero difiere en fase de la señal de entrada por un desplazamiento de fase $\Delta\Phi_1$, que depende de las propiedades piezoeléctricas y las dimensiones físicas del resonador. La señal de salida **23** se acopla a un detector de fase **24** que proporciona una señal de fase relacionada con el desplazamiento de fase de inserción.

[0018] La **figura 1B** muestra el resonador de detección **20** con el material que se está detectando unido sobre su superficie **26**. La misma señal de entrada se acopla al resonador **20**. Puesto que las características de resonancia del resonador se ven alteradas por la unión del material como una perturbación, el desplazamiento de fase de inserción de la señal de salida **25** cambia a $\Delta\Phi_2$. El detector de fase **24** detecta el cambio en el desplazamiento de fase de inserción causado por la unión del material. El cambio de desplazamiento de fase medido está relacionado con la cantidad del material unido sobre la superficie del resonador.

[0019] La **figura 1C** muestra una alternativa para medir la fase de inserción del resonador. Se añade un acoplador direccional **27** entre la fuente de señal **22** y el resonador **20** con el electrodo opuesto conectado a tierra. Un detector de fase **28** está configurado para medir el desplazamiento de fase del coeficiente de reflexión como resultado de la unión del material a la superficie del resonador.

[0020] Otros sensores de desplazamiento de fase TFBAR que pueden emplearse con los aspectos de amplificación de señal descritos en el presente documento incluyen los descritos en, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 8,409,875 titulada "RESONATOR OPERATING FREQUENCY OPTIMIZATION FOR PHASE-SHIFT DETECTION SENSORS". Por ejemplo, los aparatos de sensor pueden incluir (i) un resonador de detección que comprende sitios de unión para un analito; (ii) circuitos de accionamiento configurados para accionar el resonador de detección en un movimiento oscilante; (iii) circuitos de medición dispuestos para acoplarse al resonador de detección y configurados para medir una o más señales de salida del resonador que representan características de resonancia del movimiento oscilante del resonador de detección; y (iv) un controlador acoplado operativamente a los circuitos de accionamiento y medición. El controlador puede comunicarse mediante interfaz con un almacenamiento de datos que contiene instrucciones que, al ejecutarse, hacen que el controlador ajuste la frecuencia a la que los circuitos de accionamiento accionan el resonador de detección para mantener un punto de resonancia del resonador de detección. Por consiguiente, se puede conseguir la detección accionando el TFBAR en un movimiento oscilante; midiendo una o más señales de salida del resonador que representan características de resonancia del movimiento oscilante del TFBAR; y ajustando la frecuencia de accionamiento del resonador de detección para mantener un punto de resonancia del TFBAR. En los modos de realización, la frecuencia a la que los circuitos de accionamiento accionan el resonador de detección es una frecuencia de retardo de grupo máximo.

[0021] Estos enfoques de detección de fase se pueden utilizar de forma ventajosa con resonadores piezoeléctricos de diferentes frecuencias resonantes.

[0022] En varios modos de realización, los TFBAR para utilizarse con los métodos, dispositivos y sistemas descritos en el presente documento presentan frecuencias de resonancia de aproximadamente 1,8 GHz o superior, aproximadamente 2 GHz o superior, 2,2 GHz o superior, 2,5 GHz o superior, aproximadamente 3 GHz o superior, o aproximadamente 5 GHz o superior y pueden proporcionar sensibilidad mejorada al utilizarse con carga de masa mediada por elemento de amplificación, que se describe con más detalle a continuación. Algunas de estas frecuencias son sustancialmente más altas que las frecuencias de los resonadores piezoeléctricos descritos anteriormente.

[0023] Los resonadores de detección descritos en el presente documento son resonadores de película delgada. Los resonadores de película delgada comprenden una capa delgada de material piezoeléctrico depositado sobre un sustrato, en lugar de utilizar, por ejemplo, cuarzo de corte AT. Las películas piezoeléctricas normalmente presentan un grosor inferior a aproximadamente 5 micrómetros, tal como inferior a aproximadamente 2 micrómetros, y pueden presentar grosores inferiores a aproximadamente 100 nanómetros. Generalmente, se prefieren los resonadores de película delgada debido a sus altas frecuencias de resonancia y las sensibilidades teóricamente más altas. Dependiendo de las aplicaciones, se puede formar un resonador de película delgada utilizado como el elemento de detección para soportar los modos resonantes de onda acústica de volumen longitudinal o de corte. Preferiblemente, el elemento de detección se forma para soportar modos resonantes de onda acústica de volumen de corte, puesto que son más adecuados para utilizarse en una muestra líquida. En, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 5,932,953 concedida el 3 de agosto de 1999 a Drees *et al.* se describen detalles adicionales sobre sistemas y dispositivos de detección que pueden emplear TFR.

[0024] Los sensores TFR pueden realizarse de cualquier manera adecuada y con cualquier material adecuado. A modo de ejemplo, un resonador puede incluir un sustrato tal como una oblea de silicio o zafiro, una capa de espejo de Bragg u otro medio de aislamiento acústico adecuado, un electrodo de fondo, un material piezoeléctrico y un electrodo superior.

[0025] En un TFR se puede utilizar cualquier material piezoeléctrico adecuado. Ejemplos de sustratos piezoeléctricos adecuados incluyen tantalato de litio (LiTaO_3), niobato de litio (LiNbO_3), óxido de zinc (ZnO), nitruro de aluminio (AlN), zirconato-titanato de plomo (PZT) y similares.

[0026] Los electrodos pueden formarse a partir de cualquier material adecuado, tal como aluminio, tungsteno, oro, titanio, molibdeno, o similares. Los electrodos pueden depositarse mediante deposición en fase de vapor o pueden formarse mediante cualquier otro proceso adecuado.

[0027] Cualquier dispositivo o sistema adecuado puede emplear un resonador de película delgada y amplificación como se describe en el presente documento. A modo de ejemplo y haciendo referencia a la **figura 2**, un sistema para detectar un analito puede incluir un recipiente **10** (o más de un recipiente), el resonador de película delgada **20**, circuitos de accionamiento **22**, circuitos de medición **29** y electrónica de control **30**. Una trayectoria de fluido acopla el uno o más recipientes **10** al resonador **20**. La electrónica de control **30** está acoplada de forma operativa a los circuitos de accionamiento y a los circuitos de medición. En los modos de realización, la electrónica de control **30** está configurada para modificar la frecuencia a la que los circuitos de accionamiento **22** oscilan el resonador **20** en función de la entrada procedente de los circuitos de medición **29**.

[0028] Haciendo referencia todavía a la **figura 2**, el recipiente **10** (o más de un recipiente) pueden albergar una molécula de amplificación, un segundo componente de reconocimiento unido a un elemento de amplificación, y ópticamente uno o más de entre un marcador y una molécula de analito. Cada uno de estos reactivos se describe con más detalle a continuación. La electrónica de control **30** puede controlar el flujo de estos reactivos desde el recipiente **10** hasta el resonador **20**; p. ej., mediante una bomba, vacío, o similar.

[0029] Se puede emplear cualquier electrónica de control **30** adecuada. Por ejemplo, la electrónica de control puede incluir un procesador, controlador, memoria, o similar. La memoria puede incluir instrucciones legibles por ordenador que, al ser ejecutadas por el procesador o controlador, hacen que el dispositivo y la electrónica de control realicen diversas funciones atribuidas al dispositivo y la electrónica de control descritas en el presente documento. La memoria puede incluir cualquier medio volátil, no volátil, magnético, óptico o eléctrico, tal como una memoria de acceso aleatorio (RAM), una memoria de solo lectura (ROM), RAM no volátil (NVRAM), ROM programable y borrable eléctricamente (EEPROM), memoria *flash*, o cualquier otro medio digital. La electrónica de control **30** puede incluir cualquiera o más de entre un microprocesador, un controlador, un procesador de señales digitales (DSP), un circuito integrado de aplicación específica (ASIC), una matriz de puertas programable *in situ* (FPGA), o circuitos lógicos integrados o discretos equivalentes. En algunos ejemplos, la electrónica de control **30** puede incluir múltiples componentes, tales como cualquier combinación de uno o más microprocesadores, uno o más controladores, uno o más DSP, uno o más ASIC, o una o más FPGA, así como otros circuitos lógicos integrados o discretos. Las funciones atribuidas a la electrónica de control en el presente documento se pueden implementar como *software*, *firmware*, *hardware* o cualquier combinación de los mismos.

Reconocimiento molecular y amplificación de señal

[0030] El reconocimiento molecular de una muestra que comprende una señal de fondo considerable se puede facilitar mediante la amplificación de la señal. Los sensores, sistemas y métodos descritos en el presente documento emplean un segundo componente de reconocimiento que comprende un elemento de amplificación tal como una enzima unida. Los sensores TFBAR, en los intervalos de frecuencia más alta descritos en el presente documento, respondieron de manera muy eficiente al aumento de masa de la superficie del sensor debido a la precipitación de un sustrato escindido por una enzima.

[0031] Haciendo referencia ahora a las **figuras 3A-D**, se muestran dibujos esquemáticos que ilustran la amplificación enzimática sobre un TFBAR. Como se representa en la **figura 3A**, un componente de reconocimiento molecular **100** configurado para unirse a un analito se inmoviliza sobre una superficie **26** de un resonador **20**. El resonador **20** que presenta un componente de reconocimiento molecular inmovilizado **100** puede ponerse en contacto con una composición que comprende un analito **110**, que puede unirse al componente de reconocimiento molecular **100** (véase la **figura 3B**). El resonador **20** que presenta el componente de reconocimiento molecular inmovilizado **100** al que se une el analito **110** se puede poner en contacto con una composición que comprende un segundo componente de reconocimiento molecular **120** unido a un elemento de amplificación **130** tal como una enzima. El segundo componente de reconocimiento molecular **120** está configurado para unirse al analito **110** de manera que el segundo componente de reconocimiento molecular **120** y el elemento de amplificación unido **130** están inmovilizados con respecto a la superficie **26** (véase la **figura 3C**). En los modos de realización representados, un sustrato soluble **140** se puede convertir mediante el elemento de amplificación **130** en un producto insoluble **150**, que precipita y se acumula sobre la superficie **26** del sensor **20**, amplificando de esta manera la señal de masa como una función de cantidad o concentración de analito unido **110** (véase la **figura 3D**).

[0032] Se entenderá que la serie de eventos representados en las **figuras 3A-3D** se muestran a modo de ilustración y que se puede emplear cualquier otra secuencia adecuada de eventos. Por ejemplo, el analito **110** puede ponerse en contacto con el segundo componente de reconocimiento molecular **120** (y el elemento de amplificación unido **130**) antes de que el analito (con el segundo componente de reconocimiento molecular unido) se ponga en contacto con la superficie **26** del resonador **20** con respecto a la que se inmoviliza el componente de reconocimiento molecular **100**. El sustrato **140** puede estar presente en el momento en el que se añade el segundo componente de reconocimiento molecular **120** - elemento de amplificación **130** o puede añadirse posteriormente. En cualquier caso, se puede realizar el lavado antes de la amplificación.

[0033] Cualquier componente de reconocimiento molecular adecuado (p. ej., **100** en la **figura 3**) puede unirse a la superficie de un resonador. Preferiblemente, el componente de reconocimiento molecular se une de forma

selectiva al analito de interés. A modo de ejemplo, el componente de reconocimiento molecular puede seleccionarse del grupo consistente en ácidos nucleicos, nucleótido, nucleósido, análogos de ácidos nucleicos tales como moléculas de PNA y LNA, proteínas, péptidos, anticuerpos entre los que se incluyen IgA, IgG, IgM, IgE, lectinas, enzimas, cofactores de enzimas, sustratos de enzimas, inhibidores de enzimas, receptores, ligandos, kinasas, proteína A, Poly U, Poly A, polilisina, colorante de triazina, ácido borónico, tiol, heparina, polisacáridos, azul de Coomassie, azul A, péptidos de unión a metales, azúcar, carbohidrato, agentes quelantes, células procariotas y células eucariotas.

[0034] Se puede utilizar cualquier método adecuado para inmovilizar un componente de reconocimiento molecular sobre una superficie de un TFBAR. A modo de ejemplo, se puede depositar un revestimiento uniforme de epoxi silano sobre la superficie del sensor utilizando un proceso de deposición en fase de vapor. A continuación, se pueden depositar componentes de reconocimiento molecular de prueba y de referencia, tal como anticuerpos, sobre los resonadores de prueba y de referencia utilizando, por ejemplo, tecnología de nanodispensación con base piezoeléctrica. Las aminas primarias sobre los anticuerpos reaccionan con los grupos epóxido uniendo de forma covalente el anticuerpo a la superficie del sensor. A modo de ejemplo adicional, un grupo tiol, si está presente, del componente de reconocimiento molecular se une a una superficie del TFBAR. La superficie del TFBAR se puede modificar, según sea apropiado o necesario, para permitir la unión del componente de reconocimiento molecular.

[0035] Se puede utilizar como segundo componente de reconocimiento molecular (p. ej., **120** en la **figura 3**) cualquier componente de reconocimiento molecular adecuado, tal como los descritos anteriormente. El segundo componente de reconocimiento molecular puede unirse a cualquier elemento de amplificación adecuado, tal como una enzima. Preferiblemente, el segundo componente de reconocimiento molecular es un anticuerpo y el elemento de amplificación es una enzima.

[0036] Cualquier elemento de amplificación adecuado se puede unir al segundo componente de reconocimiento molecular. En los modos de realización, el elemento de amplificación es un iniciador de polimerización activable, tal como un fotoiniciador, un iniciador químico o un termoiniciador. El iniciador de polimerización puede activarse en presencia de uno o más monómeros para hacer que un polímero se injerte a partir del segundo componente de reconocimiento molecular. En los modos de realización, el elemento de amplificación es una enzima. En los modos de realización, la enzima es capaz de convertir un sustrato que es soluble en el entorno del ensayo en un producto insoluble que precipita sobre la superficie del sensor. Algunos ejemplos de enzimas adecuadas incluyen fosfatasa alcalina (ALP), peroxidasa de rábano (HRP), beta galactosidasa y glucosa oxidasa.

[0037] Algunos ejemplos de sistemas de enzima/sustrato que son capaces de producir un producto insoluble que es capaz de acumularse sobre una superficie de un TFBAR incluyen fosfatasa alcalina y cloruro de 5-bromo-4-cloro-3-indolilfosfato/nitroazul de tetrazolio (BCIP/NBT). La hidrólisis enzimáticamente catalizada de BCIP produce un dímero insoluble, que puede precipitar sobre la superficie de los sensores. Otros sustratos análogos que presentan la fracción fosfato sustituida por estas funcionalidades hidrolíticamente escindibles como galactosa, glucosa, ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos y aminoácidos se pueden utilizar con sus enzimas complementarias. Otros sistemas de enzima/sustrato incluyen enzimas de peroxidasa, por ejemplo, peroxidasa de rábano (HRP) o mieloperoxidasa, y uno de los siguientes: bencideno, dihidrocloruro de bencideno, diaminobencideno, o-tolideno, o-dianisidina y tetrametil-bencideno, carbazoles, particularmente 3-amino-9-etilcarbazol, y diversos compuestos fenólicos, de todos los cuales se ha informado que forman precipitados tras la reacción con las peroxidasas. Además, las oxidasas tales como la alfa-hidroxi ácido oxidasa, la aldehído oxidasa, la glucosa oxidasa, la L-aminoácido oxidasa y la xantina oxidasa se pueden usar con sistemas de sustrato oxidable, como una mezcla de metosulfato de fenazina-nitroazul de tetrazolio.

[0038] Se entenderá que se puede emplear cualquier tipo de ensayo competitivo. Se entenderá además que puede modificarse el analito para incluir un marcador reconocible por el primer o segundo complejo de reconocimiento, tal como un marcador de estreptavidina; un marcador de biotina; un marcador de proteína de unión a quitina; un marcador de proteína de unión a maltosa; un marcador de glutatión-S-transferasa; un marcador de poly(His); un marcador de epítipo tal como un marcador Myc, un marcador HA, o un marcador V5; o similares. Se entenderá además que el analito unido por marcador puede incluir una variante o un derivado del analito. La variante o el derivado es una variante o un derivado que se puede reconocer selectivamente mediante el primer o el segundo componente de reconocimiento molecular que está configurado para reconocer el analito. En algunas situaciones, puede resultar deseable que la variante o el derivado del analito presente una afinidad por el primer o el segundo componente de reconocimiento molecular que sea diferente a la afinidad del analito no unido por marcador. La variante o el derivado del analito puede ser una variante o un derivado que permita una fabricación sencilla del analito unido por marcador. Por ejemplo, el analito unido por marcador puede comprender un polipéptido recombinante, etc.

[0039] Cuando se llevan a cabo ensayos competitivos que emplean moléculas de analito unido por marcador, la molécula de analito unido por marcador, en lugar del analito o además de este, puede unirse a un primer componente de reconocimiento molecular inmovilizado sobre una superficie de un resonador.

Carga de masa mediada por elemento de amplificación/amplificación de señal con TFBAR

[0040] Se ha observado que, a medida que aumenta la frecuencia de resonancia, también debería aumentar la sensibilidad para la detección de masa. Sin embargo, esto no se observa siempre en la práctica. En teoría, un TFBAR que presenta una frecuencia de resonancia a aproximadamente 2,2 GHz debería ofrecer una sensibilidad suficiente para detectar bajas concentraciones de analitos sin el uso de amplificación de señal/carga de masa como se describe en el presente documento. Sin embargo, los inventores descubrieron que incluso con estas altas frecuencias de resonancia, los sensores TFBAR no eran lo suficientemente sensibles para detectar bajos niveles de analito. No obstante, utilizando las técnicas de amplificación/carga de masa descritas en el presente documento, se pueden conseguir más ganancias teóricas en sensibilidad ofrecidas al funcionar a frecuencias más altas.

[0041] La susceptibilidad al ruido está relacionada con la propagación de señales analizada de forma teórica anteriormente. A frecuencias más altas, la señal se propaga distancias más cortas, creando de esta manera un filtro de proximidad. Es decir, solo se mide lo que se encuentra próximo a la superficie. Sin embargo, lo que constituye proximidad cambiará con la frecuencia y puede presentar importantes ramificaciones prácticas con respecto a la susceptibilidad al ruido de fondo. El funcionamiento a frecuencias más altas con la carga de masa no solo da lugar a una sensibilidad de señal mejorada, sino que también da lugar a una menor susceptibilidad al ruido. Esto se puede traducir funcionalmente en, por ejemplo, requisitos de lavado menos estrictos, puesto que el segundo componente de reconocimiento molecular unido al amplificador que no está unido a la superficie del resonador (p. ej., mediante analito unido al primer componente de reconocimiento molecular) no debería añadir una masa considerable cerca de la superficie del resonador. Además, los requisitos de lavado para obtener una lectura de base estable en una muestra negativa resultaron mucho menos estrictos con TFBAR de frecuencia más alta, lo que se puede deber también a la distancia de propagación de señal más corta a una frecuencia más alta.

[0042] Sorprendentemente, se ha descubierto que se observa una mayor amplificación de señal a frecuencias más altas que a frecuencias más bajas. Véase, p.ej., la **Tabla 2** en los EJEMPLOS que aparecen a continuación, donde se observó una mayor amplificación de señal con carga de masa mediada por enzima (con respecto a unión directa) en resonadores de 2250 MHz en comparación con resonadores de 900 MHz. Que se pudieran obtener niveles mayores de amplificación de señal a frecuencias más altas fue algo inesperado, puesto que los diferentes resonadores (900 MHz y 2250 MHz) se construyeron para contener la misma concentración o cantidad del primer componente de reconocimiento, los ensayos utilizaron la misma concentración y cantidad de analito, y se utilizó la misma concentración y cantidad de segundo componente de reconocimiento molecular unido a enzima y sustrato. Por consiguiente, en teoría, se esperaría que la cantidad de amplificación que se produjera realmente fuera la misma (se esperaría que la cantidad de producto precipitado sobre la superficie fuera la misma). Sin embargo, se observó una mayor cantidad de amplificación de señal a frecuencias más altas.

Uso

[0043] Los sensores, dispositivos y sistemas descritos en el presente documento se pueden emplear para detectar un analito en una muestra. Los sensores pueden encontrar uso en numerosas aplicaciones químicas, medioambientales, de seguridad alimentaria o médicas. A modo de ejemplo, una muestra que se ha de probar puede ser, o puede derivarse de, sangre, suero, plasma, líquido cefalorraquídeo, saliva, orina, y similares. Otras composiciones de prueba que no son composiciones fluidas se pueden disolver o suspender en una solución o solvente apropiados para su análisis.

Definiciones

[0044] Todos los términos científicos y técnicos utilizados en el presente documento presentan significados comúnmente utilizados en la técnica a menos que se especifique lo contrario. Las definiciones proporcionadas en el presente documento tienen el fin de facilitar la comprensión de determinados términos utilizados frecuentemente en el presente documento y no pretenden limitar el alcance de la presente exposición.

[0045] Como se utiliza en la presente memoria y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular «un», «una», «el» y «la» abarcan modos de realización que tienen referentes en plural, a menos que el contenido indique claramente lo contrario.

[0046] Como se utiliza en la presente memoria y en las reivindicaciones adjuntas, el término «o» se emplea en general en su sentido que incluye «y/o» a menos que el contenido indique claramente lo contrario. El término «y/o» significa uno o todos los elementos enumerados o una combinación de dos elementos cualquiera o más de los enumerados.

[0047] Como se utiliza en el presente documento, «presenta», «que presenta», «tiene», «que tiene», «incluye», «que incluye», «comprende», «que comprende» o similares se utilizan en su sentido abierto, y en general significan «incluyendo, pero sin carácter limitativo». Se entenderá que «que consiste esencialmente en», «que consiste en» y similares se incluyen en «que comprende» y similares. Como se utiliza en el presente documento,

«que consiste esencialmente en», cuando hace referencia a una composición, producto, método o similar, significa que los componentes de la composición, producto, método o similar están limitados a los componentes enumerados y cualquier otro componente que no afecte materialmente a la(s) característica(s) básica(s) y novedosa(s) de la composición, producto, método o similar.

- 5 **[0048]** Las palabras «preferido/a» y «preferiblemente» se refieren a modos de realización de la invención que pueden ofrecer determinados beneficios, en determinadas circunstancias. Sin embargo, también se pueden preferir otros modos de realización, en las mismas o distintas condiciones. Además, la enumeración de uno o más modos de realización preferidos no implica que otros modos de realización no sean útiles, y no pretende excluir otros modos de realización del alcance de la exposición, incluyendo las reivindicaciones.

- 10 **[0049]** Asimismo, en el presente documento, las enumeraciones de intervalos numéricos mediante puntos finales incluyen todos los números comprendidos dentro de ese intervalo (p. ej., 1 a 5 incluye 1; 1,5; 2; 2,75; 3; 3,80; 4; 5; etc. o 10 o menos incluye 10; 9,4; 7,6; 5; 4,3; 2,9; 1,62; 0,3; etc.). Cuando un intervalo de valores es «hasta» un valor particular, ese valor está incluido dentro del intervalo.

- 15 **[0050]** Cualquier dirección a la que se haga referencia en el presente documento, tal como «arriba», «abajo», «izquierda», «derecha», «superior», «inferior» y otras direcciones y orientaciones se describen en el presente documento en aras de claridad en referencia a las figuras y no deben limitarse a un dispositivo o sistema o uso real del dispositivo o sistema. Los dispositivos o sistemas según se describen en el presente documento se pueden utilizar en un número de direcciones y orientaciones.

- 20 **[0051]** «Caso de unión», como se utiliza en el presente documento, se refiere a la unión de un analito objetivo a un componente de reconocimiento molecular inmovilizado en una superficie de un sensor.

[0052] Ejemplos no limitantes de analitos objetivo incluyen ácidos nucleicos, proteínas, péptidos, anticuerpos, enzimas, carbohidratos, compuestos químicos, o especies infecciosas tales como bacterias, hongos, protozoos, virus y similares. En determinadas aplicaciones, el analito objetivo puede unirse a más de un componente de reconocimiento molecular.

25 EJEMPLOS

[0053] Los siguientes ejemplos no limitantes sirven para describir de forma más completa la manera de utilizar los sensores, métodos, dispositivos y sistemas descritos anteriormente. Se entiende que estos ejemplos no sirven de ninguna manera para limitar el alcance de la presente exposición o de las reivindicaciones que aparecen a continuación, sino que se presentan para fines ilustrativos.

- 30 **[0054]** Se realizaron estudios de prueba inicial de concepto utilizando un ensayo de IgG antibovina y fosfatasa alcalina (ALP) como enzima conjugada con BCIP/NBT como sustrato de precipitación. En resumen, se inmovilizaron anticuerpos de cabra antibovinos y anticuerpos de cabra anti-rata sobre los resonadores de prueba y de referencia dispensando puntos de 350 μm utilizando un dispensador piezoeléctrico sobre sensores revestidos con epoxi silano con una frecuencia de resonador de 2,2 GHz. Se incubaron los sensores durante
35 toda la noche en un entorno con mucha humedad a 4 °C. Se bloquearon los sensores con gelatina de piel de pescado antes de realizar las pruebas. A continuación, se eliminó la señal de referencia de la señal de prueba y se utilizó esta señal delta como respuesta de unión. Todas las pruebas se realizaron con los sensores sumergidos en placas de microtitulación. La agitación de las muestras se consiguió utilizando barras de agitación. La secuencia de prueba fue de la siguiente manera: se expusieron los sensores a 1 $\mu\text{g/ml}$ de IgG
40 bovina durante 60 segundos seguido de un enjuagado de 30 segundos y se expusieron a un conjugado de IgG antibovina de conejo-fosfatasa alcalina durante 60 segundos. A continuación, se enjuagaron los sensores 2 veces durante 30 segundos y se expusieron a un sustrato de BCIP/NBT durante 60 segundos. Los sensores se conectaron eléctricamente a un analizador de red que se utilizó para monitorizar el desplazamiento de frecuencia de los dispositivos. En este caso, se rastreó la fase que resultó en un retardo de grupo máximo y se determinó el
45 cambio en la frecuencia de entrada para mantener la fase a medida que cambió la masa. Se recogió una ventana de 50 MHz alrededor de la frecuencia del resonador en un índice de muestreo de 2 muestras por segundo tanto para los resonadores de prueba como para los de referencia. Este dato se procesó posteriormente para determinar el desplazamiento de frecuencia como función de tiempo tanto para los resonadores de prueba como para los de referencia. El desplazamiento de frecuencia observado a partir de la unión directa a antígeno se
50 comparó entonces con la señal observada en el sustrato enzimático.

- [0055]** Los resultados de este estudio inicial se presentan en la **figura 4A**, siendo la **figura 4B** una vista detallada de una parte de la gráfica presentada en la **figura 4A**. Como se muestra, la amplificación de ALP-enzima provocó una mejora significativa en la sensibilidad con respecto a la unión directa sin adición del sustrato. Como se muestra en la **Tabla 1** que aparece a continuación, se observó una amplificación de más de 100 veces
55 en la respuesta y la pendiente como resultado de la amplificación enzimática.

Tabla 1: Resultados de la amplificación-ALP

	Unión directa	Amplificación enzimática
Respuesta (Integral)	-9 024	-1 094 473
Amplificación (X)	121	
Pendiente	-3,24	-374,77
Amp. pendiente	115,71	

[0056] Se llevaron a cabo estudios similares utilizando un ensayo de IgG antibovina y peroxidasa de rábano (HRP) como enzima conjugada. El sustrato precipitante en esta reacción fue peróxido de hidrógeno y ácido p-hidroxicinámico (datos no mostrados). También se llevaron a cabo análisis adicionales sobre la mejora ALP con BCIP/NBT utilizando un ensayo de IgG anti-rata (datos no mostrados). Un trabajo de desarrollo posterior con el sistema ALP y BCIP/NBT ha incluido una evaluación con una variedad de otros.

[0057] Los beneficios de la amplificación de precipitado parecen depender de la frecuencia. Se recubrieron dispositivos con frecuencias de funcionamiento de 2250 MHz y 850 MHz con un fragmento de F(ab') de cabra anti-rata. El grupo sulfhidrilo nativo en la F(ab') reducida se utilizó para unirse a la superficie del resonador de oro formando un enlace de coordinación de oro y azufre. A continuación, estos sensores se bloquearon con gelatina de piel de pescado y se probaron en muestra de tampón negativa o 1 µg/ml de IgG de rata seguido de incubación con un anticuerpo conjugado de fosfatasa alcalina de cabra anti-rata. Después se enjuagaron los sensores dos veces y se expusieron a sustrato de BCIP/NBT. Se redujeron los datos como se describe anteriormente tanto para el caso de unión directa como para la amplificación de sustrato. La comparación de los TFBAR de 2250 MHz y 900 MHz demuestra un aumento de 2,5 veces en la amplificación de señal con la frecuencia más alta (2250 MHz) con respecto a los dispositivos de 850 MHz. De forma adicional, el nivel de fondo observado en la muestra negativa fue considerablemente superior en los dispositivos de 850 MHz. Esto resultó cierto al analizarse los datos como kHz/s de respuesta, pero la diferencia se volvió aún más drástica cuando se convirtieron los resultados a ppm/s dividiendo la respuesta de desplazamiento de frecuencia por la frecuencia de funcionamiento. La adición de dos etapas de lavado adicionales antes de la exposición al sustrato redujo la cantidad de señal de fondo en los dispositivos de 850 MHz a niveles comparables a los observados en los dispositivos de 2250 MHz (datos no mostrados).

Tabla 2: Comparación de amplificación con TFBAR de 850 MHz y 2250 MHz

Frecuencia (MHz)	2250	850
Señal de fondo en negativo (ppm/s)	-0,86	-23,11
Unión directa (kHz/s)	-3,26	-0,70
Señal amplificada (kHz/s)	-233,7	-22,3
Amplificación (X)	71,7	31,9

[0058] Por consiguiente, se dan a conocer los modos de realización de RESONADOR ACÚSTICO DE VOLUMEN DE PELÍCULA DELGADA CON MEJORA DE SEÑAL. Un experto en la materia entenderá que los conductores, dispositivos tales como los métodos, sistemas y generadores de señales descritos en el presente documento se pueden poner en práctica con modos de realización distintos a los que se han dado a conocer. Los modos de realización dados a conocer se presentan con fines ilustrativos y no limitativos. Se entenderá también que los componentes de los conductores representados y descritos con respecto a las figuras y los modos de realización en el presente documento se pueden intercambiar.

REIVINDICACIONES

1. Método de detección de un analito en una muestra, que comprende:

5 poner en contacto un analito (110) y opcionalmente un analito unido por marcador, un primer componente de reconocimiento (100), y un segundo componente de reconocimiento (120), unido a un elemento de amplificación (130) para generar un complejo que comprende el primer componente de reconocimiento (100) y el segundo componente de reconocimiento (120) unido al elemento de amplificación (130), donde el primer componente de reconocimiento (100) está inmovilizado con respecto a una superficie (26) de un resonador acústico de volumen de película delgada (TFBAR) (20) configurado para unir de forma selectiva uno o más de entre el analito (110), el analito al que se une el marcador o el marcador, o cualquiera o varias de estas moléculas unidas al segundo componente de reconocimiento (120), y donde el segundo componente de reconocimiento (120) unido al elemento de amplificación (130) está configurado para unir de forma selectiva el analito (110), el analito al que está unido el marcador o el marcador, o cualquiera o varias de estas moléculas unidas al primer componente de reconocimiento (100);

15 poner en contacto el elemento de amplificación unido (130) con un precursor de amplificación (140) en condiciones para convertir el precursor de amplificación (140) en una molécula (150) que añade masa en una superficie (26) del TFBAR (20); y

medir la masa añadida en la superficie (26) del TFBAR (20)

caracterizado por que el TFBAR (20) presenta una frecuencia de resonancia de 1,8 GHz o superior.

20 2. Método de la reivindicación 1, donde el analito o el analito y el analito unido por marcador se pone(n) en contacto con el segundo componente de reconocimiento unido al elemento de amplificación antes de ponerse en contacto con el primer componente de reconocimiento inmovilizado con respecto a la superficie del TFBAR.

3. Método de la reivindicación 1, donde el analito o el analito y el analito unido por marcador se pone(n) en contacto con el primer componente de reconocimiento antes de ponerse en contacto con el segundo componente de reconocimiento unido al elemento de amplificación.

25 4. Método de la reivindicación 1, donde el analito o el analito unido por marcador, el primer componente de reconocimiento y el segundo componente de reconocimiento unido al elemento de amplificación se ponen en contacto de forma simultánea.

5. Método de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde la medición de la masa añadida o unida a la superficie del TFBAR comprende:

30 acoplar una señal eléctrica de entrada al TFBAR, presentando la señal eléctrica de entrada una frecuencia dentro de una banda de resonancia del resonador piezoeléctrico, donde la frecuencia es 1,8 GHz o superior;

transmitir la señal eléctrica de entrada a través del TFBAR para generar una señal eléctrica de salida que presenta una frecuencia;

35 recibir la señal eléctrica de salida procedente del TFBAR; y

determinar un cambio de desplazamiento de fase de la señal eléctrica de salida ocasionado por la deposición de un precipitado sobre la superficie del TFBAR.

6. Método de la reivindicación 5, donde el cambio de desplazamiento de fase es un cambio de desplazamiento de fase de coeficiente de inserción o reflexión.

40 7. Método de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde la medición de la masa añadida o unida a la superficie del TFBAR comprende:

accionar el TFBAR en un movimiento oscilante a una frecuencia de 1,8 GHz o superior;

medir una o más señales de salida de resonador que representan características de resonancia del movimiento oscilante del TFBAR; y

45 ajustar la frecuencia de accionamiento del resonador de detección para mantener un punto de resonancia del TFBAR.

8. Método de la reivindicación 7, donde el punto de resonancia del TFBAR es un punto de retardo de grupo máximo.

9. Método de cualquiera de las reivindicaciones 5-8, donde la frecuencia es 2 GHz o superior.

10. Método de cualquiera de las reivindicaciones 5-8, donde la frecuencia es de 2 GHz a 2,5 GHz.

11. Método de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, donde el elemento de amplificación es una enzima y el precursor de amplificación es un sustrato, y donde la enzima está configurada para convertir el sustrato en un precipitado.

5 **12.** Sistema de detección de un analito en una muestra, que comprende:

un resonador acústico de volumen de película delgada (TFBAR) (20) que comprende una superficie (26) en la que se inmoviliza un primer componente de reconocimiento (100), estando configurado el primer componente de reconocimiento (100) para unir de forma selectiva el analito (110), un analito al que se une un marcador, o un marcador, o cualquiera de estas moléculas a las que se une un segundo componente de reconocimiento (120) unido a un elemento de amplificación (130);

10

uno o más recipientes (10) que albergan un precursor de amplificación (140), el segundo componente de reconocimiento (120) unido al elemento de amplificación (130) y, opcionalmente, uno o más de entre el marcador y el analito (110);

15

una trayectoria de fluido desde el uno o más recipientes (10) hasta la superficie (26) del TFBAR (20) a la que se une el primer componente de reconocimiento (100);

circuitos de accionamiento (22) configurados para accionar el TFBAR (20) en un movimiento oscilante;

circuitos de medición (29) dispuestos para acoplarse al TFBAR (20) y configurados para medir una o más señales de salida de resonador que representan características de resonancia del movimiento oscilante del resonador de detección; y

20

un controlador (30) acoplado en funcionamiento a los circuitos de accionamiento y de medición,

caracterizado por que el TFBAR (20) presenta una frecuencia de resonancia de 1,8 GHz o superior.

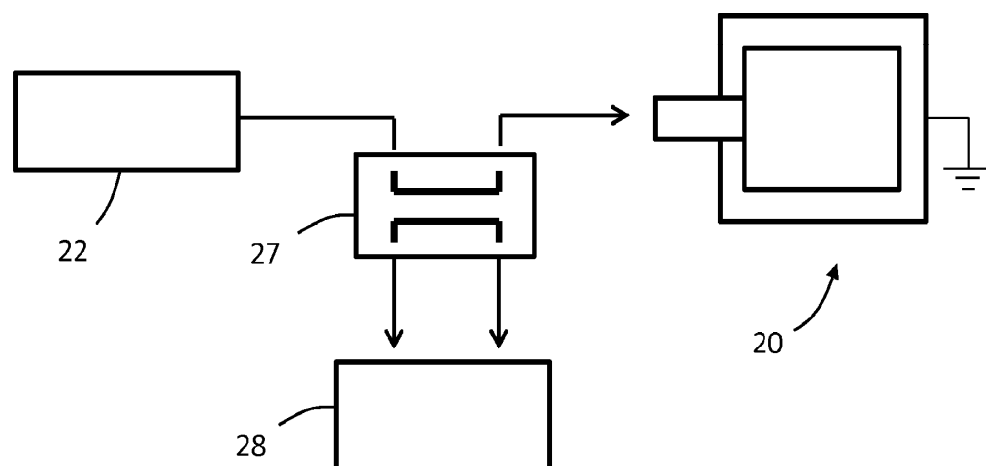
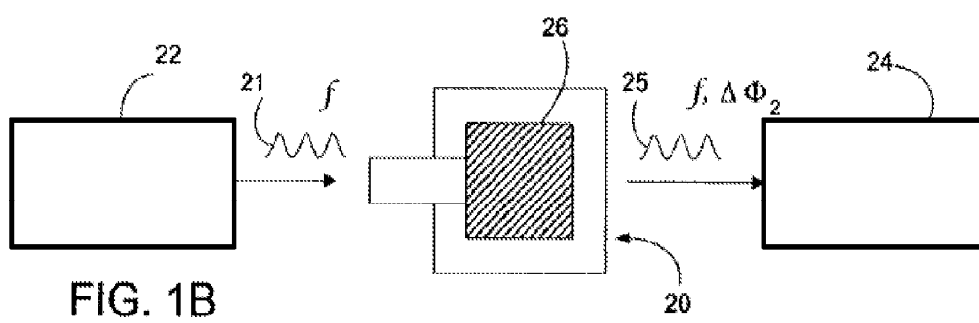
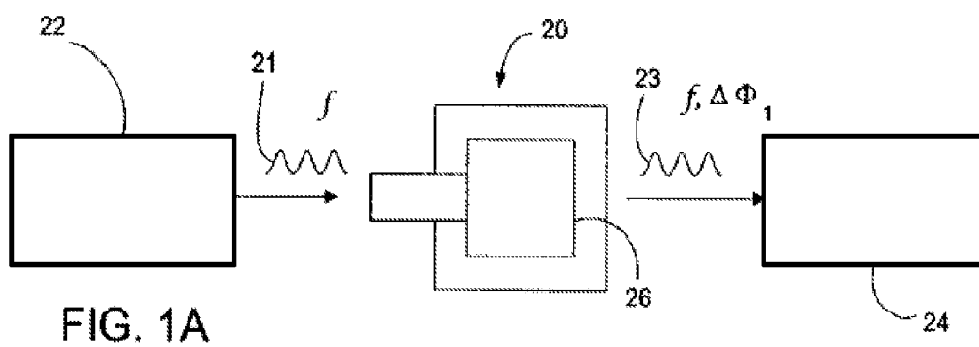
13. Kit para utilizarse con un dispositivo para la detección de un analito en una muestra, que comprende:

un resonador acústico de volumen de película delgada (TFBAR) (20) que comprende una superficie (26) en la que se inmoviliza un primer componente de reconocimiento (100), estando configurado el primer componente de reconocimiento (100) para unir de forma selectiva el analito (110), un analito al que se une un marcador, o un marcador, o cualquiera de estas moléculas a las que se une un segundo componente de reconocimiento (120) unido a un elemento de amplificación (130), presentando el TFBAR (20) una frecuencia de resonancia de 1,8 GHz o superior; y

25

uno o más recipientes (10) que albergan un precursor de amplificación (140), el segundo componente de reconocimiento (120) unido al elemento de amplificación (130) y, opcionalmente, uno o más de entre el marcador y el analito (110).

30



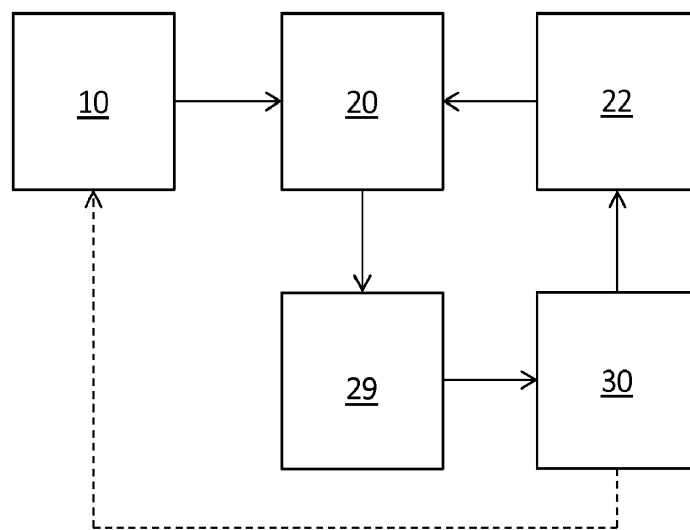


FIG. 2

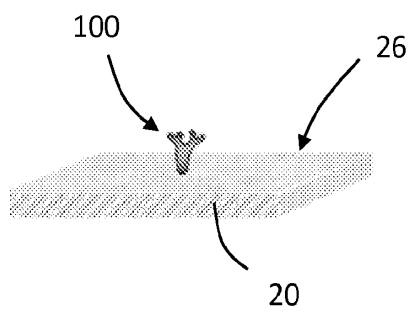


FIG. 3A

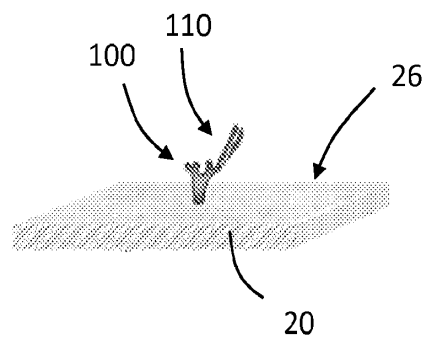


FIG. 3B

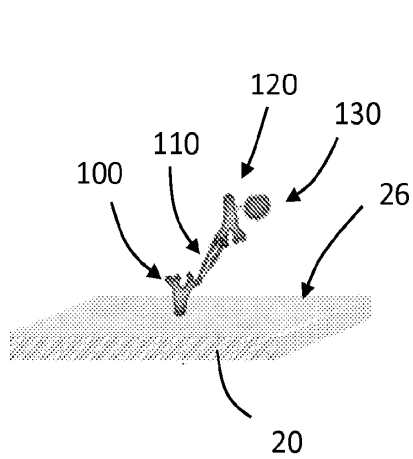


FIG. 3C

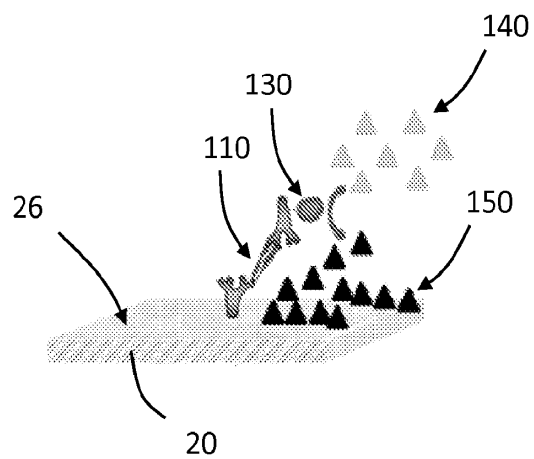


FIG. 3D

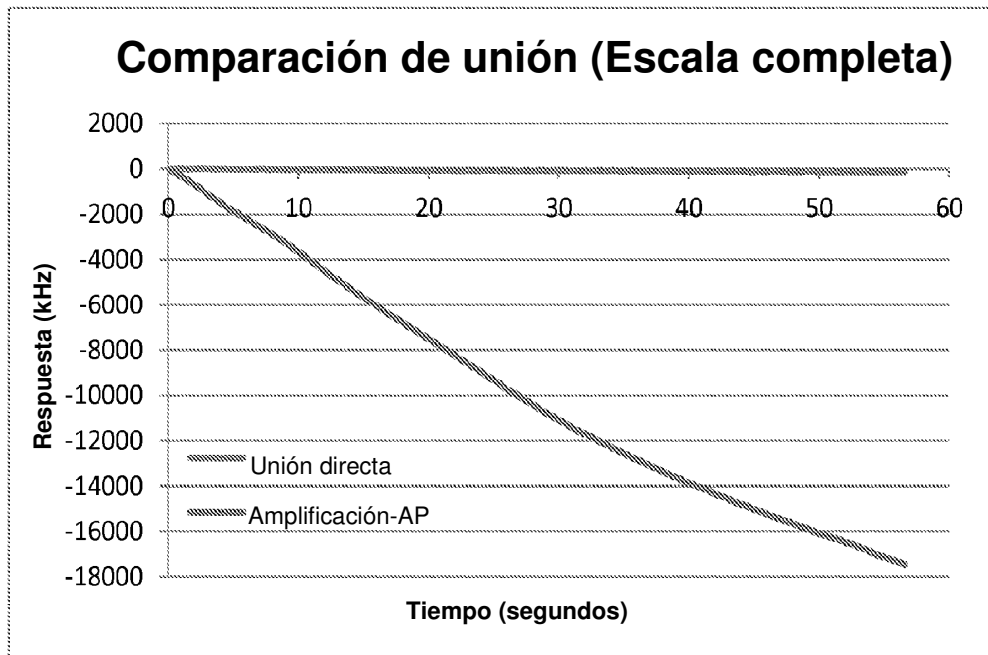


FIG. 4A

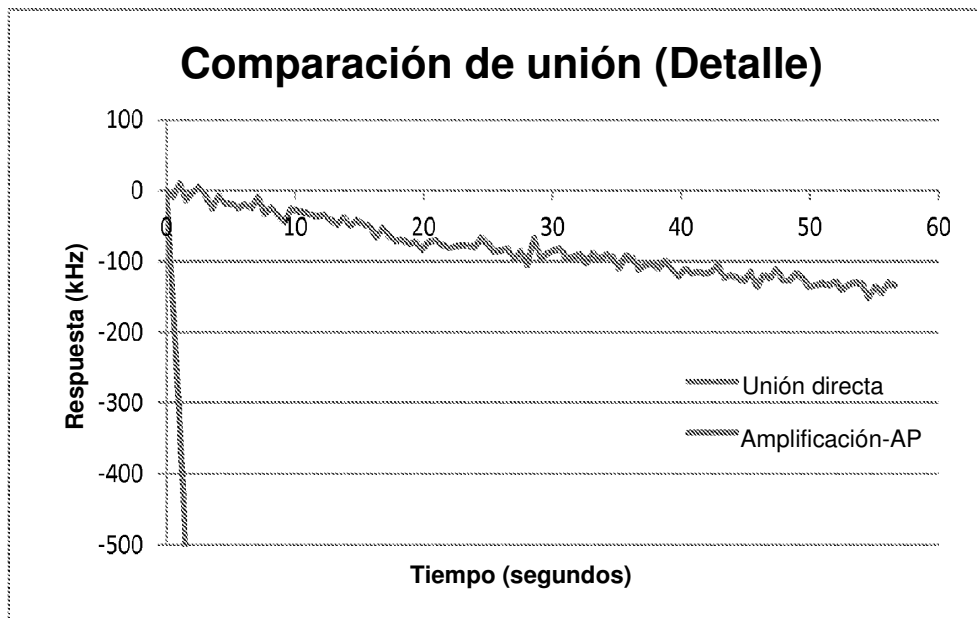


FIG. 4B