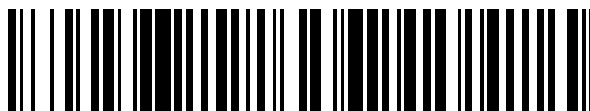


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 776 523**

51 Int. Cl.:

**B01L 3/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.02.2012 PCT/CH2012/000032**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.08.2012 WO12106827**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.02.2012 E 12703428 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.01.2020 EP 2673086**

54 Título: **Microportadores codificados mejorados, sistema de ensayo que los comprende y método para realizar un ensayo**

30 Prioridad:

**07.02.2011 EP 11000970**

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

**30.07.2020**

73 Titular/es:

**MYCARTIS NV (100.0%)  
Industriepark-Zwijnaarde 7C  
9052 Zwijnaarde, BE**

72 Inventor/es:

**DEMIERRE, NICOLAS**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 2 776 523 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**

Microportadores codificados mejorados, sistema de ensayo que los comprende y método para realizar un ensayo

5 La presente invención está relacionada con un microportador codificado y, más específicamente, con un microportador que tiene un elemento separador, con un sistema de ensayo y con un método para realizar un ensayo químico y/o biológico.

Dentro del alcance de la presente invención, una micropartícula o un microportador se refieren a cualquier tipo de partículas, respectivamente a cualquier tipo de portadores, de tamaño microscópico, siendo típicamente la dimensión más grande de 100 nm a 300 micrómetros, preferiblemente de 1  $\mu$ m a 200  $\mu$ m.

10 De acuerdo con la presente invención, el término microportador se refiere a una micropartícula funcionalizada, o diseñada para ser funcionalizada, es decir, que contiene, o que está diseñada para contener, uno o más ligandos o unidades funcionales unidas a la superficie de los microportadores o impregnadas en su volumen. Un amplio espectro de moléculas químicas y biológicas se pueden unir como ligandos a un microportador. Un microportador puede tener múltiples funciones y/o ligandos. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término unidad funcional está destinado a definir cualquier especie que modifica, se adhiere a, se adjunta a, recubre o está unida de forma covalente o no covalente a la superficie de dicho microportador o impregnada en su volumen. Estas funciones incluyen todas las funciones que se utilizan habitualmente en la tecnología de cribado y diagnóstico de alto rendimiento.

15 20 Cualquier referencia en esta divulgación a un código de un microportador o de una micropartícula incluye códigos escritos sobre la superficie de dicho microportador, o de dicha micropartícula, así como códigos escritos a una profundidad interna del microportador o micropartícula. Dichos códigos y métodos para escribir códigos se divulgan, por ejemplo, en la solicitud de patente WO 00/63695.

25 El descubrimiento o el cribado de fármacos y la secuenciación de ADN implican normalmente realizar ensayos sobre números muy grandes de compuestos o moléculas. Estos ensayos típicamente incluyen, por ejemplo, el examen de bibliotecas químicas en busca de compuestos de interés o moléculas diana particulares, o la realización de ensayos en busca de interacciones químicas y biológicas de interés entre moléculas. Esos ensayos requieren a menudo la realización de miles de reacciones químicas y/o biológicas individuales.

Una serie de problemas prácticos surgen del manejo de un número tan grande de reacciones individuales. El problema más significativo es probablemente la necesidad de etiquetar y realizar un seguimiento de cada reacción individual.

30 Un método convencional de realizar un seguimiento de la identidad de las reacciones se logra separando físicamente cada reacción en una placa de microtitulación. Sin embargo, el uso de placa de microtitulación conlleva varias desventajas, como, en particular, una limitación física para el tamaño de la placa de microtitulación utilizada y, por lo tanto, para el número de reacciones diferentes que pueden llevarse a cabo en la placa.

35 A la luz de las limitaciones en el uso de micromatrices, hoy en día éstas se sustituyen ventajosamente por micropartículas codificadas funcionalizadas para realizar ensayos químicos y/o biológicos. Cada micropartícula codificada funcionalizada está provista de un código que identifica de forma única los uno o más ligandos particulares unidos a su superficie. El uso de tales micropartículas codificadas funcionalizadas permite procesamiento aleatorio, lo que significa que miles de micropartículas codificadas funcionalizadas de forma única pueden ser mezcladas y sometidas a un ensayo simultáneamente. Ejemplos de micropartículas codificadas funcionalizadas se describen en la solicitud de patente internacional WO 00/63695 y se ilustran en la figura 1.

40 45 La solicitud de patente internacional WO 2010/072011 describe un dispositivo de ensayo que tiene al menos un canal microfluídico que sirve como cámara de reacción en la cual se puede introducir una pluralidad de micropartículas codificadas funcionalizadas 1 (figura 1). El canal microfluídico está provisto de medios de detención que actúan como filtros que permiten que una disolución líquida que contiene reactivos químicos y/o biológicos fluya a través de ellos mientras bloquean las micropartículas codificadas funcionalizadas 1 en su interior. La altura geométrica de dichos canales microfluídicos y las dimensiones de dichas micropartículas codificadas funcionalizadas 1 se eligen de modo que dichas micropartículas se disponen típicamente en una disposición monocapa dentro de cada canal microfluídico impidiendo que dichas micropartículas 1 se superpongan unas a otras.

A las micropartículas codificadas funcionalizadas 1 que muestran una reacción favorable de interés entre los uno o más ligando unidos a ellas y los reactivos químicos y/o biológicos que fluyen a través se les puede leer el código, conduciendo de ese modo a la identidad del ligando que produjo la reacción favorable.

50 55 El término canal microfluídico se refiere a un canal cerrado, es decir, a un paso alargado para fluidos, con una sección transversal de tamaño microscópico, es decir, siendo la mayor dimensión de la sección transversal típicamente de aproximadamente 1 a aproximadamente 500 micrómetros, preferiblemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 300 micrómetros. Un canal microfluídico tiene una dirección longitudinal, que no es necesariamente una línea recta, y que corresponde a la dirección en la cual son dirigidos los fluidos dentro del canal microfluídico, es decir, preferiblemente esencialmente a la dirección correspondiente al vector de velocidad media del fluido, suponiendo un régimen de flujo laminar.

Con el dispositivo de ensayo descrito en el documento WO 2010/072011, la detección de una reacción de interés se puede basar en lectura continua de la intensidad de fluorescencia de cada micropartícula codificada funcionalizada 1 presente en un canal microfluídico, como se representa en la figura 6a. La figura 6a muestra claramente que es difícil o incluso imposible extraer información cuantitativa temprana de las pendientes en el origen cuando se considera la intensidad de cada micropartícula codificada funcionalizada 1 en función del tiempo. Por lo tanto, las micropartículas codificadas funcionalizadas 1 y el dispositivo de ensayo descrito en el documento WO 2010/072011 no permiten una cuantificación rápida de reactivo o ligando antes de que se alcance un estado de equilibrio, cuando las señales fluorescentes se saturan. Aunque el dispositivo de ensayo del documento WO 2010/072011 reduce el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio, en valores de concentración típicos de analito en el rango nanomolar, todavía se requieren de diez a veinte minutos, mientras que una concentración más baja en el rango picomolar puede tardar hasta horas en alcanzarse y servir para la cuantificación. Además, las discrepancias en sus señales fluorescentes, en particular el patrón de difusión, incluso después de que se haya alcanzado el equilibrio, no determinan una información cuantitativa con un margen de error inferior a aproximadamente el 15%.

Las solicitudes de patente GB 2404918, EP 1464700, y US 2003/0129654 también divulgan microportadores codificados utilizados para la detección de reacciones químicas y/o biológicas.

La presente invención tiene como objetivo remediar todas o parte de las desventajas anteriormente mencionadas.

La presente invención cumple estos objetivos al proporcionar un microportador codificado de acuerdo con la reivindicación 1.

La invención también está relacionada con un sistema de ensayo que comprende una pluralidad de microportadores codificados de acuerdo con la invención y que comprende además un dispositivo de ensayo que tiene al menos un canal microfluídico conformado para alojar a una pluralidad de dichos microportadores codificados, teniendo dicho canal microfluídico al menos una pared de observación a través de la cual es monitorizable un ensayo, en el cual dicho canal microfluídico y elementos separadores de cada microportador codificado están conformados para garantizar que, cuando dicho microportador codificado se introduce en dicho canal microfluídico con dicha superficie de detección orientada hacia dicha pared de observación, existe un espacio entre dicha superficie de detección y dicha pared de observación para permitir una circulación de fluido en dicho espacio.

Además, la invención se refiere a un método para realizar un ensayo químico y/o biológico que comprende un paso de usar al menos un microportador codificado de acuerdo con la invención, en el cual se monitoriza una reacción química y/o biológica sobre una superficie de detección de dicho microportador codificado.

De esta manera, al menos un microportador codificado de acuerdo con la invención se puede utilizar en un dispositivo de ensayo que tiene un canal microfluídico para realizar ensayos químicos y/o biológicos de una manera rápida, múltiple y cuantitativa. El microportador codificado de acuerdo con la invención permite cuantificación temprana en un análisis cuantitativo múltiple, típicamente en los primeros pocos segundos del ensayo, reduciendo por tanto significativamente la duración (típicamente dividiendo la duración por al menos diez) de un análisis cuantitativo realizado con las micropartículas codificadas funcionalizadas descritas en el documento WO 2010/072011. También se ha descubierto que un dispositivo de ensayo de acuerdo con la invención también requiere muchos menos microportadores codificados para obtener un análisis cuantitativo fiable, en comparación con la cantidad de micropartículas codificadas funcionalizadas requeridas de la técnica anterior, incrementando así el nivel de multiplexación y reduciendo el tiempo de lectura. Cuando el microportador codificado se introduce en el canal microfluídico del dispositivo de ensayo con su superficie de detección orientada hacia la pared de observación, una disolución líquida que contiene los reactivos químicos y/o biológicos utilizados para los ensayos puede fluir en el espacio entre dicha superficie de detección y dicha pared de observación generado por los elementos separadores. Los elementos separadores permiten alinear los microportadores codificados en la altura geométrica del canal microfluídico y, por lo tanto, facilitan el flujo de la disolución líquida a través del canal microfluídico.

El posicionamiento exacto de las micropartículas codificadas funcionalizadas 1 de la técnica anterior no se controla durante su introducción en el canal microfluídico y algunas de ellas están en contacto con una de las superficies del canal microfluídico, especialmente con la pared de observación. Tales contactos evitan que aparezca un flujo convectivo entre las superficies que se tocan (una de las cuales puede ser la superficie de detección) y restringen las transferencias de masa de reactivos a un flujo difusivo para esas superficies de detección de micropartículas codificadas funcionalizadas en contacto con una superficie del canal microfluídico.

Por el contrario, con el microportador codificado de la presente invención, cada elemento separador impide cualquier contacto entre la superficie de detección y una pared del canal microfluídico, fuerza un flujo convectivo y evita que la reacción sobre la superficie de detección esté gobernada sólo por un flujo difusivo. Una pared particular del canal microfluídico es, por ejemplo, una pared de observación de un dispositivo de ensayo.

De acuerdo con una realización, cuando el microportador codificado se coloca sobre un plano liso con la superficie de detección orientada hacia ese plano liso, la superficie de contacto destinada a estar en contacto con dicho plano liso representa menos del 20% de la superficie de detección, preferiblemente menos del 15 %, más preferiblemente menos del 7%. De este modo es posible promover una transferencia de masa con respecto a flujo difusivo. Un plano liso

particular es, por ejemplo, una pared de observación de un dispositivo de ensayo. Cuando el microportador codificado está colocado sobre un plano liso con la superficie de detección orientada hacia ese plano liso, la superficie de contacto destinada a estar en contacto con dicho plano liso representa menos del 20% de la parte de la superficie de detección orientada hacia dicho plano liso, preferiblemente menos del 15%, más preferiblemente menos del 7%.

5 De acuerdo con un rasgo técnico, la superficie de detección tiene al menos un área en la que, cuando dicho microportador se coloca sobre un plano liso con la superficie de detección orientada hacia dicho plano liso, cada punto de dicha área pertenece a dos secciones transversales diferentes de dicho microportador codificado que son perpendiculares entre sí y a dicho plano, estando dichas secciones transversales libres de elemento separador. Este rasgo técnico garantiza que, cuando el microportador está colocado plano contra dicho plano liso y está en un flujo laminar esencialmente paralelo a ese plano liso, la orientación del microportador alrededor de un eje normal al plano liso no afecta significativamente al flujo en el espacio. Dicho de otra manera, no hay una orientación rotacional preferida del microportador con respecto al flujo, lo que cambiaría la eficacia de una reacción que se produjera sobre la superficie de detección.

15 En una realización, dicha superficie de contacto sólo está conformada por todos los elementos separadores. Más preferiblemente, la superficie de contacto consiste en al menos un extremo de los uno o más elementos separadores distales de la superficie de detección. A dicho extremo también se le denomina extremo distal.

En una realización, la superficie de contacto está alejada de la superficie de detección.

20 En una realización, el microportador codificado comprende al menos dos, preferiblemente al menos tres, elementos separadores diseñados de modo que, cuando el microportador codificado se coloca sobre un plano liso, dichos al menos dos elementos separadores están orientados hacia dicho plano liso.

De acuerdo con una realización de la invención, el cuerpo tiene una forma cilíndrica o una forma de oblea.

En una realización preferida, la superficie de detección es sustancialmente plana.

En una realización, al menos un elemento separador es integral con dicho cuerpo. En otra realización, al menos un elemento separador es una parte separada que está unida al cuerpo.

25 De acuerdo con la invención, cuando el microportador codificado se coloca sobre un plano liso con una superficie de detección orientada hacia dicho plano liso, la máxima distancia entre dicha superficie de detección y dicho plano liso es mayor del 5%, preferiblemente mayor del 10%, de la máxima altura del microportador codificado. De este modo, el tamaño de la sección transversal del espacio entre la superficie de detección y el plano liso aumenta mientras que la congestión creada por el microportador codificado en un canal microfluídico se reduce para permitir un flujo laminar en dicho canal microfluídico. Este tamaño aumentado de la sección transversal del espacio incrementará la velocidad del flujo con respecto a la superficie de detección y, por lo tanto, incrementará las posibilidades de contacto entre moléculas de interés en la disolución fluida y los uno o más ligandos unidos al microportador codificado. Esto incrementa la sensibilidad del ensayo. Además, esta relación reduce la resistencia fluidica de un líquido que fluye cuando dichos microportadores codificados se cargan en un canal microfluídico. La reducción de la resistencia microfluídica significa que se puede aumentar el número de microportadores codificados cargados en un canal microfluídico dado durante un ensayo, aumentando así el nivel de multiplexación. Se ha encontrado que el microportador codificado de la invención preserva la integridad del dispositivo de ensayo durante un ensayo.

35 En una realización, cada elemento separador sobresale de al menos una superficie de detección.

40 En una realización preferida, cada elemento separador está conformado para garantizar que, cuando el microportador codificado se coloca sobre un plano liso con la superficie de detección orientada hacia dicho plano liso, dicho plano liso y dicha superficie de detección son sustancialmente paralelos entre sí. De este modo, el espacio entre la superficie de detección y dicho plano liso promueve un flujo laminar cuando el microportador codificado se carga en un canal microfluídico. Un microportador codificado, de acuerdo con la invención, en el que la distancia entre dicho plano liso y la superficie de detección es constante, promueve un flujo laminar.

45 De acuerdo con una posibilidad, cada elemento separador está situado en la periferia de la superficie de detección.

Los microportadores codificados de la invención pueden estar hechos de o comprender cualquier material utilizado habitualmente en tecnología de cribado y diagnóstico de alto rendimiento. Ejemplos no limitativos de estos materiales incluyen látex, poliestireno, dextranos reticulados, polimetileno, policarbonato, polipropileno, celulosa, poliácridamida, polidimetilacrilamida, etileno-propileno fluorado, así como materiales normalmente utilizados en microfabricación o micromolienda tales como vidrio, SiO<sub>2</sub>, silicio, PMMA (polimetilmetacrilato), polisilicio, molibdeno, poliimida, oro, plata, aluminio, acero u otros metales o materiales fotosensibles a base de epoxi como el SU-8. El microportador codificado puede tener cualquier forma y tamaño. Preferiblemente, los microportadores codificados están hechos de cristal de silicio.

55 En una realización, el microportador codificado de la invención está codificado de tal manera que su función se puede determinar leyendo el código.

- 5 En una realización preferida, el cuerpo del microportador codificado de la invención tiene una forma de oblea. El término oblea significa que el cuerpo del microportador codificado tiene dos superficies principales esencialmente paralelas y esencialmente planas, una de las cuales al menos sirve como superficie de detección, y que su altura entre las dos superficies principales es notablemente menor (por ejemplo, por al menos un factor de dos) que su anchura y que su longitud.
- De acuerdo con un rasgo técnico, cada superficie principal puede tener cualquier forma; ejemplos no limitativos son un cuadrado, un rectángulo, un círculo, un triángulo o un hexágono.
- 10 De esta manera, cuando microportadores codificados con un cuerpo que tiene la forma de una oblea se introducen en un canal microfluídico con una sección rectangular o cercana a rectangular como se describe en la solicitud de patente WO2010/072011, tienen sus dos superficies principales orientadas esencialmente hacia dos superficies principales del canal microfluídico, una de las cuales es la pared de observación, y pueden detectarse fácilmente por medios ópticos a través de la pared de observación.
- En otra realización, los microportadores codificados tienen propiedades magnéticas. De este modo, pueden ser inmovilizados dentro del canal microfluídico.
- 15 En una realización, el método de acuerdo con la invención comprende además un paso de introducir uno o más microportadores codificados en un canal microfluídico de un dispositivo de ensayo de acuerdo con la invención.
- En una realización preferida, el método de acuerdo con la invención comprende además un paso de leer el código adjunto de dicho microportador codificado a través de dicha pared de observación del dispositivo de ensayo.
- 20 En una realización, el método comprende además un paso de leer el código adjunto de dicho microportador codificado a través de dicha pared de observación del dispositivo de ensayo.
- La presente invención se ilustra con mayor detalle mediante la siguiente descripción detallada descrita a la vista de los dibujos adjuntos, que representan una realización ejemplar y explicativa de un microportador codificado no restrictivo de la invención, en los cuales:
- la figura 1 ilustra una vista en perspectiva desde arriba de micropartículas codificadas de la técnica anterior;
- 25 la figura 2 ilustra una vista en perspectiva desde arriba de microportadores codificados de acuerdo con la invención;
- la figura 3 ilustra una vista en sección transversal de un canal microfluídico de un dispositivo de ensayo de acuerdo con la invención;
- la figura 4 ilustra una vista en planta de los microportadores codificados de la figura 2 cargados en el canal microfluídico de la figura 3;
- 30 la figura 5 ilustra una vista en sección transversal detallada de los microportadores codificados de la figura 2 cargados en el canal microfluídico de las figuras 3 y 4.
- la figura 6a ilustra emisiones fluorescentes en las micropartículas codificadas funcionalizadas de la figura 1 observadas dentro del primer minuto de un ensayo;
- 35 la figura 6b ilustra emisiones fluorescentes en los microportadores codificados de la figura 2 observadas dentro del primer minuto de un ensayo;
- la figura 7a ilustra las curvas cinéticas de señal fluorescente que se producen en las micropartículas codificadas funcionalizadas de la figura 1;
- la figura 7b ilustra unas curvas cinéticas de señal fluorescente que se producen en los microportadores codificados de la figura 2;
- 40 Un microportador codificado 2 de la invención, mostrado en las figuras 2, 4, 5 y 6b, comprende un cuerpo 3 que tiene una forma de un cilindro circular recto delineado por una superficie cilíndrica 4 y dos superficies principales circulares 5, como se muestra en las figuras 2, 4, 5 y 6b. Al menos una de estas superficies principales 5 comprende una superficie de detección 6 sustancialmente plana, mostrada en las imágenes 2 y 5, para detectar una reacción química y/o biológica. Un diámetro típico del microportador codificado 2 varía de 1 a aproximadamente 200  $\mu\text{m}$ .
- 45 El cuerpo 3 de dicho microportador codificado 2 tiene una forma de oblea cilíndrica, lo que significa que la altura del cilindro circular recto es notablemente más pequeña (por al menos un factor dos) que el radio de las superficies principales 5. Para poder detectar una reacción química y/o biológica, la superficie de detección 6 del microportador codificado 2 está ventajosamente parcial o totalmente funcionalizada.
- 50 El microportador codificado 2 de la invención comprende además un código legible. De este modo, el microportador codificado 2 se codifica y funcionaliza de tal manera que su funcionalización es determinable leyendo su código. Como

se muestra en las Figuras 2 y 6b, el código comprende un patrón distintivo de una pluralidad de orificios pasantes 7. El código también incluye preferiblemente una marca de orientación 8 asimétrica tal como un signo en forma de L (figura 2) o un triángulo. Esta marca de orientación 8 asimétrica está destinada a distinguir las superficies principales 5 entre sí.

- 5 Un microportador codificado 2 de acuerdo con la invención está hecho de óxido de silicio. Un microportador codificado 2 de la invención se puede conformar utilizando tecnología de grabado en seco y/o en húmedo.

Además, un microportador codificado 2 de acuerdo con la invención comprende una pluralidad de elementos separadores 9, mostrados en las figuras 2 y 5, en particular veinte elementos separadores 9, que se proyectan desde el cuerpo 3. El microportador codificado 2 con sus elementos separadores 9 está conformado para garantizar que, cuando el microportador codificado 2 se coloca sobre un plano liso 10 con la superficie de detección 6 orientada hacia dicho plano 10, existe un espacio 11 entre dicho plano liso 10 y la superficie de detección 6, como se muestra en la figura 5.

Cada elemento separador 9 tiene una forma de un cilindro recto truncado 12, está dispuesto en la periferia de la superficie de detección 6 y se extiende en la continuación de la superficie cilíndrica 4 hasta un extremo distal 13. Cada cilindro recto circular 12 está truncado a lo largo de su altura por la superficie cilíndrica 4 del microportador codificado 2.

En una alternativa, no mostrada en las figuras, cada elemento separador 9 podría tener la forma de un cono truncado o de una punta.

Las alturas de cada elemento separador 9 son iguales entre sí. Los extremos distales 13 de cada elemento separador 9 forman juntos una superficie de contacto 14, ilustrada en la figura 2, que es sustancialmente paralela a la superficie de detección 6. Cuando dicho microportador codificado 2 se coloca sobre el plano liso 10 con la superficie de detección 6 orientada hacia dicho plano liso 10, esta superficie de contacto 14 está destinada a estar en contacto con dicho plano liso 10. El tamaño de la superficie de contacto 14 representa menos del 20% del tamaño de la superficie de detección 6, preferiblemente menos del 15%.

Elegir la altura de cada cilindro recto truncado 12 permite definir la distancia  $d$ , representada en la figura 5, entre la superficie de detección 6 y dicho plano liso 10 sobre el que se coloca el microportador codificado 2 como se describe más adelante (figura 5). Ventajosamente, esta distancia  $d$ , es decir, la altura del espacio 11, es menor que el 30% de la altura máxima  $H$  del microportador codificado 2 (figura 5). Lo más preferiblemente, la distancia  $d$  es mayor que el 5% de la altura  $H$ , más preferiblemente 10%. En el ejemplo de las figuras, la altura  $H$  del microportador codificado 2 es de aproximadamente 10  $\mu\text{m}$  y la distancia  $d$  es de aproximadamente 1  $\mu\text{m}$ .

La superficie de detección 6 tiene además un área 15 en la que, cuando el microportador codificado 2 se coloca sobre el plano liso 10 con la superficie de detección 6 orientada hacia dicho plano liso 10, cada punto de dicha área 15 pertenece a las dos secciones transversales diferentes a lo largo de los ejes AA y BB, mostrados en la figura 2, que son perpendiculares entre sí y a dicho plano 10. Dichas secciones transversales están libres del elemento separador 9. Esto garantiza que, cuando el microportador 2 está colocado plano contra dicho plano liso 10 y está en un flujo laminar esencialmente paralelo a ese plano liso 10, la orientación del microportador 2 alrededor de un eje normal al plano liso 10 no afecta significativamente el flujo en el espacio 11. Dicho de otra manera, no existe ninguna orientación rotacional preferida del microportador 2 con respecto al flujo, lo que cambiaría la eficacia de una reacción que se produjera sobre la superficie de detección 6.

Los microportadores codificados funcionalizados 2 son útiles para realizar ensayos químicos y/o biológicos en un sistema de ensayo de acuerdo con la invención. En efecto, el microportador codificado 2 sirve como soporte para ensayos químicos y/o biológicos. En esta capacidad, el microportador codificado 2 contiene uno o más ligandos unidos a su superficie, en particular unidos a la superficie de detección 6. Cuando se pone en contacto el microportador codificado 2 unido a ligando con una disolución que puede contener uno o más analitos diana, se puede producir una reacción de interés sobre la superficie de detección 6, dependiendo de la presencia o ausencia de un analito apropiado. Como ejemplo, una reacción de interés puede emitir o inhibir señal fluorescente, que puede ser monitorizada. La detección de una reacción sobre la superficie de detección 6 puede permitir determinar la presencia o ausencia de analitos de interés particulares.

Un sistema de ensayo 100 de acuerdo con la invención comprende una pluralidad de microportadores codificados 2 de la invención y comprende además un dispositivo de ensayo 101, mostrado parcialmente en las figuras 3 a 5. El dispositivo de ensayo 101 tiene al menos un canal microfluídico 102 representado en las figuras 3 a 5. Dicho dispositivo de ensayo 101 se describe, por ejemplo, en la solicitud de patente WO 2010/072011.

El canal microfluídico 102 comprende una entrada 103 y una salida 104 y está conformado para alojar a una pluralidad de dichos microportadores codificados 2. El canal microfluídico 102 está provisto de medios de detención 105 dispuestos en las cercanías de la salida 104 del canal microfluídico 102 y que actúan como filtros que permiten que fluya a través de ellos una disolución líquida mientras bloquean a dichos microportadores codificados 2 en su interior. El canal microfluídico 102 tiene una sección transversal que permite que al menos dos microportadores codificados 2 estén dispuestos uno al lado del otro a lo largo de dicho canal microfluídico 102, en una disposición monocapa como

se representa en la figura 4. Los tamaños del canal microfluídico 102 y del microportador codificado 2 se eligen de modo que la altura H de dicho microportador codificado 2 varíe de aproximadamente 51% a aproximadamente 95% de la altura D más pequeña (figura 5) del canal microfluídico 102.

5 El canal microfluídico 102 comprende al menos una pared de observación 106 a través de la cual es monitorizable un ensayo. Típicamente, cuando el ensayo se monitoriza mediante señal fluorescente, la pared de observación 106 es transparente.

10 En un sistema de acuerdo con la presente invención, cuando los microportadores codificados 2 se cargan en el canal microfluídico 102 con dicha superficie de detección 6 orientada hacia dicha pared de observación 106, los elementos separadores 9 generan un espacio 10 entre dicha superficie de detección 6 y dicha pared de observación 106 para permitir una circulación de líquido en dicho espacio 10. Este líquido que puede fluir en el espacio 10 contiene reactivo químico y/o biológico de interés para el ensayo.

15 Para demostrar la ventaja de utilizar microportadores codificados 2 en el sistema de ensayo 100 de acuerdo con la invención en lugar de utilizar un sistema de ensayo existente, un conjunto de micropartículas codificadas 1 de la técnica anterior y un conjunto de microportadores codificados 2 se han funcionalizado ambos con el mismo ligando, en las mismas condiciones. La química implicada para funcionalizar dicho microportador codificado 2 o dicha micropartícula codificada es bien conocida e implica primero una silanización de los grupos silanol superficiales seguida de una oxidación para obtener grupos carboxilo antes de unir un ligando. En el ensayo descrito aquí, el ligando unido sobre las superficies fue el anticuerpo de la proteína Inmunoglobulina G (IgG). El conjunto de micropartículas codificadas 1 y el conjunto de microportadores codificados 2 se cargaron a continuación cada uno de ellos en dos canales microfluídicos similares 102 y ambos se pusieron en contacto con el mismo líquido que contenía un reactivo químico con alta probabilidad de reaccionar con dicho ligando y producir una señal fluorescente, que se monitorizó. Para el ensayo actual, el líquido contenía una anti-inmunoglobulina G (anti-IgG).

25 Las figuras 6a y 6b muestran la señal emitida respectivamente por las micropartículas codificadas 1 y los microportadores codificados 2 dentro del primer minuto de los ensayos, a una concentración de aproximadamente 100 nM.

La superficie de una micropartícula codificada 1 dada de la técnica anterior a menudo muestra patrón de difusión o patrón lineal, como se ilustra en la figura 6a. Por el contrario, los microportadores codificados 2 mediante el uso de los elementos separadores 9 exhiben una señal homogénea sobre una superficie de detección 6 dada, como se ilustra en la figura 6b.

30 Las figuras 7a y 7b muestran las mediciones cuantitativas de señales fluorescentes respectivamente para cada micropartícula codificada 1 o para cada microportador 2 a lo largo del tiempo. Las micropartículas codificadas 1 exhiben discrepancias significativas en sus señales fluorescentes de una micropartícula a otra, como se muestra en la figura 7a, y eventualmente requieren un gran panel estadístico para extraer información significativa.

35 Por el contrario, durante los primeros minutos de un ensayo, las señales registradas en cada superficie de detección 6 de cada microportador codificado 2 no exhiben discrepancias entre sí, como se muestra en la figura 7b.

Por lo tanto, los elementos separadores 9 permiten un flujo convectivo homogéneo en todo el canal microfluídico 101, lo que da como resultado un aumento fluorescente homogéneo a lo largo del tiempo y entre los microportadores codificados 2.

40 El aumento homogéneo de la señal permite una cuantificación rápida del analito que se está lavando, desde los primeros segundos, observando la tasa de fluorescencia. Esto no es así con las micropartículas codificadas 1 de la técnica anterior ya que el aumento de la señal de fluorescencia se ahoga en artefactos provocados por defecto en la transferencia de masa como se muestra en el área resaltada en la figura 7a, sin recurrir a un gran panel estadístico de micropartículas.

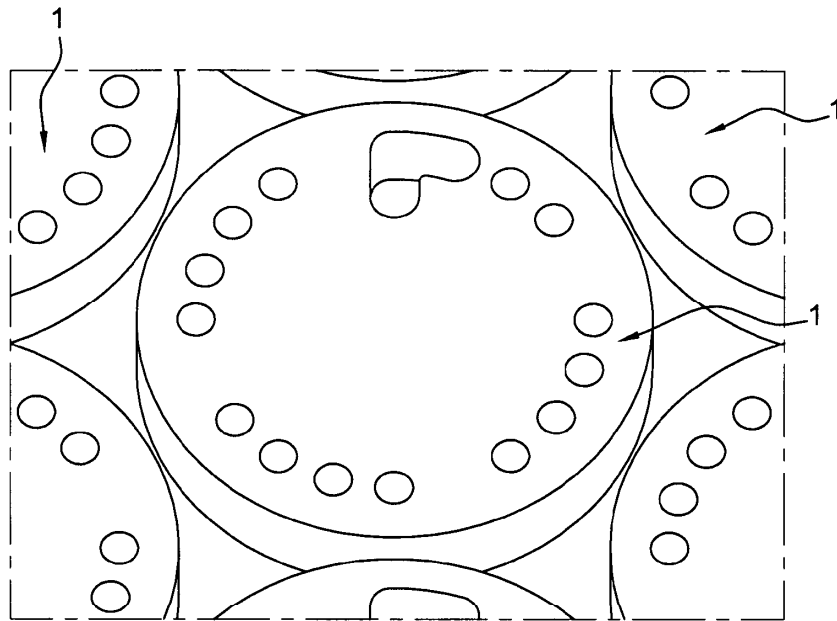
45 Otras realizaciones de la invención resultarán evidentes para los expertos en la materia a partir de la consideración de la especificación y de la puesta en práctica de la invención descrita en esta memoria. Se pretende que la especificación y los ejemplos se consideren sólo ejemplares, siendo indicado el alcance de la invención por las siguientes reivindicaciones.

**REIVINDICACIONES**

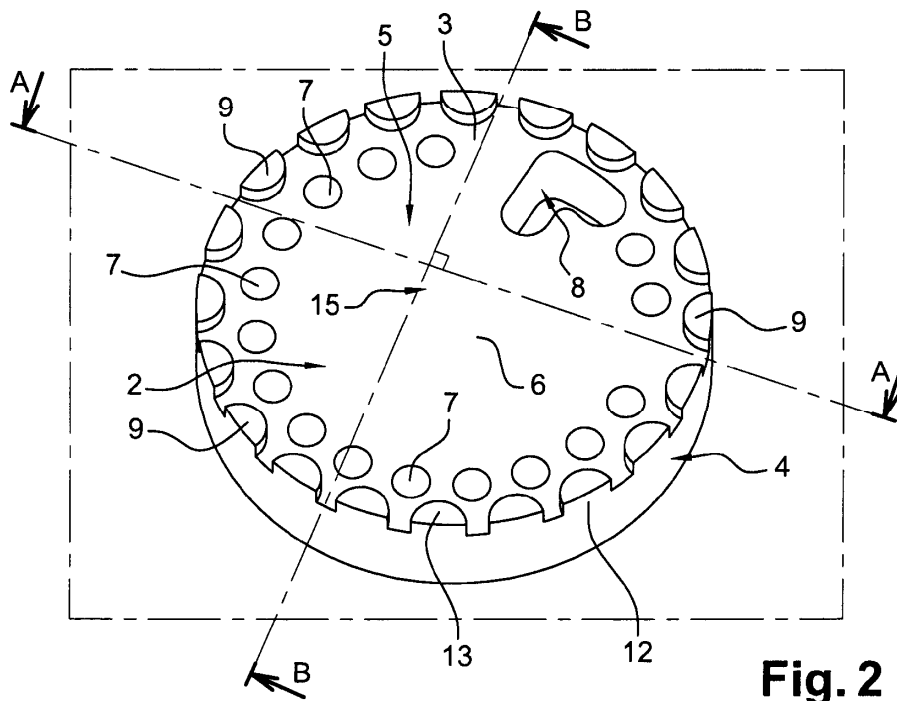
1. Un microportador codificado (2), que comprende un código legible para identificar el microportador, comprendiendo dicho microportador un cuerpo (3) que tiene al menos una superficie de detección (6) para detectar una reacción química y/o biológica, comprendiendo el microportador al menos un elemento separador (9) que se proyecta desde el cuerpo (3) y conformado para garantizar que, cuando el microportador codificado (2) se coloca sobre un plano liso (10) con la superficie de detección (6) orientada hacia dicho plano liso (10), existe un espacio (1) entre dicho plano liso (10) y esta superficie de detección (6), caracterizado por que cuando el microportador codificado (2) se coloca sobre un plano liso (10) con la superficie de detección (6) orientada hacia dicho plano liso (10), la superficie de contacto (14) destinada a estar en contacto con dicho plano liso (10) está alejada de la superficie de detección (6) y la máxima distancia (d) entre dicha superficie de detección (6) y dicho plano liso (10) es mayor del 5% de la altura máxima (h) del microportador codificado (2), preferiblemente mayor del 10% y caracterizado por que cuando el microportador codificado (2) se coloca sobre un plano liso (10) con la superficie de detección (6) orientada hacia ese plano liso (10), el tamaño de la superficie de contacto (14) destinada a estar en contacto con dicho plano liso (10) representa menos del 30% del tamaño de la parte de la superficie de detección (6) orientada hacia dicho plano liso (10).
2. Un microportador codificado (2) de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual, cuando el microportador codificado (2) se coloca sobre un plano liso (10) con la superficie de detección (6) orientada hacia ese plano liso (10), el tamaño de la superficie de contacto (14) destinada a estar en contacto con dicho plano liso (10) representa menos del 10% del tamaño de la parte de la superficie de detección (6) orientada hacia dicho plano liso (10), preferiblemente menos del 5%.
3. Un microportador codificado (2) de acuerdo con la reivindicación 2, en el cual dicha superficie de contacto (14) consiste en al menos un extremo distal (13) de elementos separadores (9).
4. Un microportador codificado (2) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el cual la superficie de detección (6) tiene al menos un área en la que, cuando dicho microportador se coloca sobre un plano liso (10) con la superficie de detección (6) orientada hacia dicho plano liso (10), cada punto de dicha área pertenece a dos secciones transversales diferentes de dicho microportador codificado (2) que son perpendiculares entre sí y a dicho plano (10), estando dichas secciones transversales libres de elemento separador (9).
5. Un microportador codificado (2) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el cual la superficie de detección (6) es plana.
6. Un microportador codificado (2) de acuerdo con la reivindicación 5, en el cual cada elemento separador (9) está conformado para garantizar que, cuando el microportador codificado (2) se coloca sobre un plano liso (10) con la superficie de detección (6) orientada hacia dicho plano liso (10), dicho plano liso (10) y dicha superficie de detección (6) son paralelos entre sí.
7. Un microportador codificado (2) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el cual cada elemento separador (9) sobresale de al menos una superficie de detección (6).
8. Un microportador codificado (2) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el cual comprende al menos dos, preferiblemente al menos tres, elementos separadores (9) diseñados de modo que, cuando el microportador codificado (2) se coloca sobre un plano liso (10), dichos al menos dos elementos separadores (9) están orientados hacia dicho plano liso (10).
9. Un microportador codificado (2) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el cual cada elemento separador (9) está situado en la periferia de la superficie de detección (6).
10. Un sistema de ensayo (100) que comprende una pluralidad de microportadores codificados (2) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y que comprende además un dispositivo de ensayo (101) que tiene al menos un canal microfluídico (102) conformado para alojar a una pluralidad de dichos microportadores codificados (2), teniendo dicho canal microfluídico (102) al menos una pared de observación (106) a través de la cual es monitorizable un ensayo, en el cual dicho canal microfluídico (102) y elementos separadores (9) de cada microportador codificado (2) están conformados para garantizar que, cuando dicho microportador codificado (2) se introduce en dicho canal microfluídico (102) con dicha superficie de detección (6) orientada hacia dicha pared de observación (106), existe un espacio (10) entre dicha superficie de detección (6) y dicha pared de observación (106) para permitir una circulación de fluido en dicho espacio (10).
11. Un método para realizar un ensayo químico y/o biológico que comprende un paso de utilizar al menos un microportador codificado (2) de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 10, en el cual se monitoriza una reacción química y/o biológica sobre una superficie de detección (6) de dicho microportador codificado (2).
12. Un método de acuerdo con la reivindicación 11, que comprende además un paso de monitorizar al menos una reacción química y/o biológica a través de dicha pared de observación (106) del dispositivo de ensayo (101).



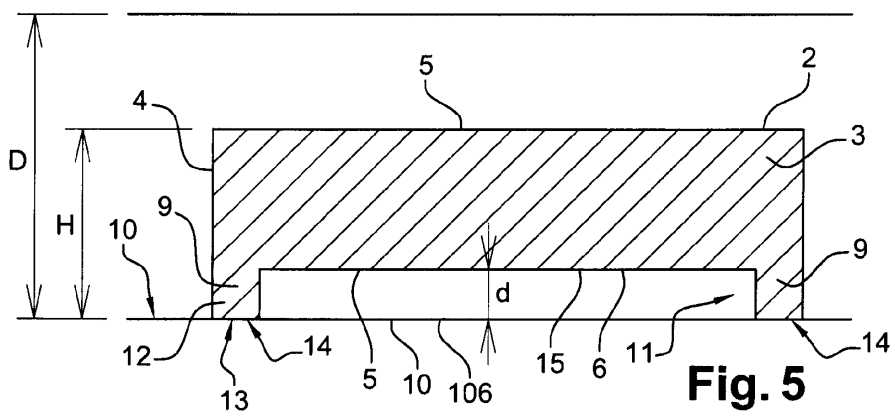
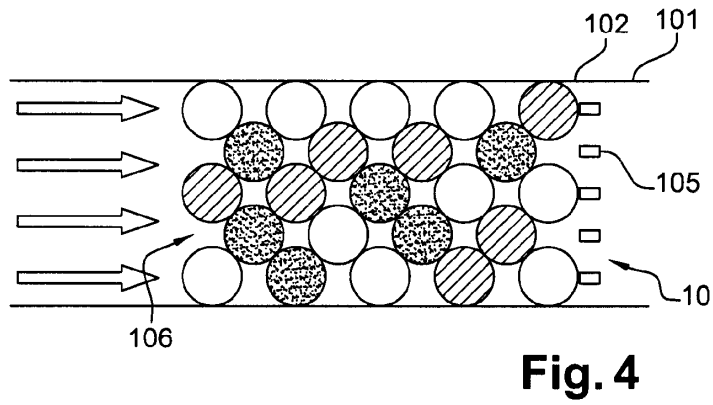
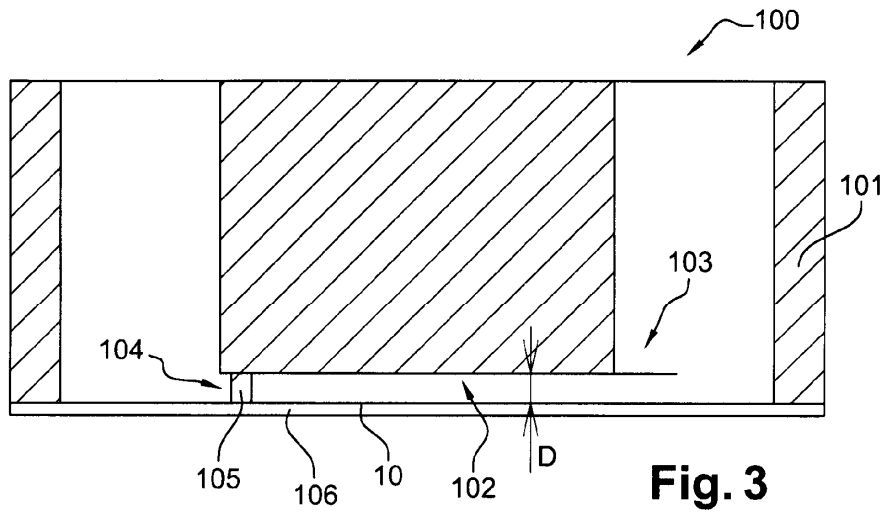
13. Un método de acuerdo con la reivindicación 11 o 12, que comprende además un paso de leer el código adjunto de dicho microportador codificado (2) a través de dicha pared de observación (106) del dispositivo de ensayo (101).

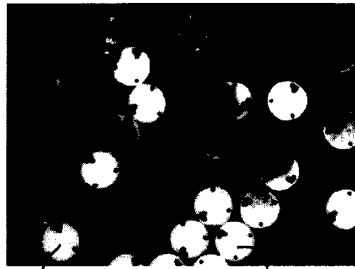


**Fig. 1**

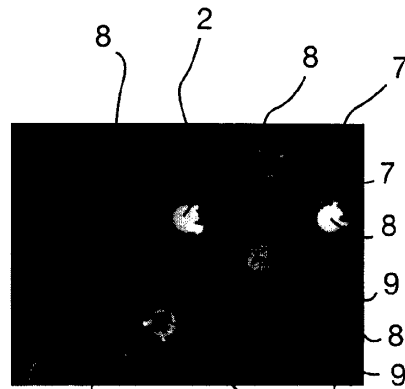


**Fig. 2**

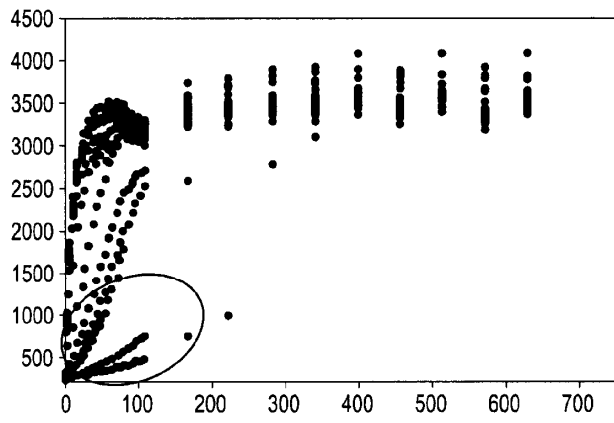




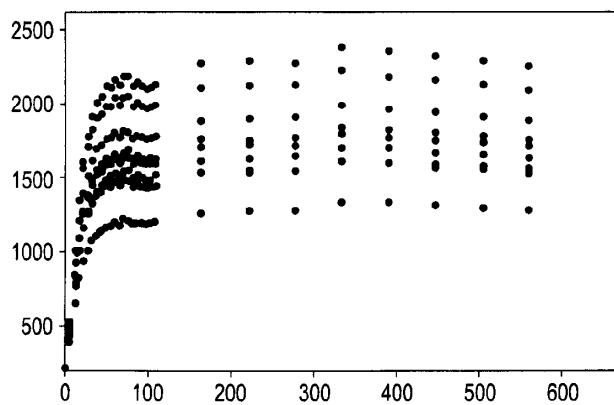
**Fig. 6a**



**Fig. 6b**



**Fig. 7a**



**Fig. 7b**