

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 787 857**

51 Int. Cl.:

G01N 15/14 (2006.01)

G01N 33/543 (2006.01)

B01L 3/00 (2006.01)

B81C 99/00 (2010.01)

B81C 1/00 (2006.01)

H01G 13/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.07.2013 PCT/EP2013/065442**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.01.2014 WO14016262**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.07.2013 E 13739449 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.03.2020 EP 2877423**

54 Título: **Método para producir microportadores**

30 Prioridad:

24.07.2012 EP 12177718

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

19.10.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**TORNAY, RAPHAËL;
DEMIERRE, NICOLAS;
GAMPER, STEPHAN y
RENAUD, PHILIPPE**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 787 857 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

Método para producir microportadores

La invención se refiere a un método para producir microportadores y a un microportador. La invención se refiere en particular a microportadores adecuados para realizar un ensayo biológico y/o químico para laboratorios de investigación y clínicos.

Dentro del alcance de la presente invención, un microportador o una micropartícula se refiere a cualquier tipo de partículas, respectivamente a cualquier tipo de portadores, de tamaño microscópico, normalmente siendo la dimensión más grande de desde 100 nm hasta 300 micrómetros, preferiblemente desde 1 μm hasta 200 μm .

Según la presente invención, el término microportador se refiere a una micropartícula funcionalizada, o adaptada para funcionalizarse, que contiene, o está adaptada para contener, uno o más ligandos o unidades funcionales unidas a la superficie del microportador o impregnados en su masa. A un microportador pueden unirse un amplio espectro de moléculas químicas y biológicas como ligandos. Un microportador puede tener múltiples funciones y/o ligandos. Tal como se usa en el presente documento, el término unidad funcional pretende definir cualquier especie que modifique, se una a, se adhiera a ellos, recubre o esté unida covalente o no covalentemente a la superficie de dicho microportador o impregnada en su masa. Estas funciones incluyen todas las funciones que se utilizan de manera rutinaria en la tecnología de detección y diagnóstico de alto rendimiento.

El descubrimiento o la detección de fármacos y la secuenciación de ADN implican comúnmente realizar ensayos en un gran número de compuestos o moléculas. Estos ensayos normalmente incluyen, por ejemplo, seleccionar bibliotecas químicas para compuestos de interés o moléculas diana particulares, o someter a prueba interacciones químicas y biológicas de interés entre moléculas. Esos ensayos a menudo requieren llevar a cabo miles de reacciones químicas y/o biológicas individuales.

Numerosos problemas prácticos surgen de la manipulación de un número tan grande de reacciones individuales. El problema más significativo es probablemente la necesidad de etiquetar y rastrear cada reacción individual.

Un método convencional para rastrear la identidad de las reacciones se logra separando físicamente cada reacción en una placa de microtitulación (micromatriz). Sin embargo, el uso de placas de microtitulación conlleva varias desventajas, como, en particular, una limitación física con respecto al tamaño de placas de microtitulación utilizadas y, por lo tanto, con respecto al número de reacciones diferentes que pueden llevarse a cabo en las placas.

A la luz de las limitaciones en el uso de micromatrices, hoy en día se sustituyen ventajosamente por micropartículas codificadas funcionalizadas para realizar ensayos químicos y/o biológicos. Cada micropartícula codificada funcionalizada está dotada de un código que identifica de manera única el/los ligando(s) particular(es) unido(s) a su superficie. El uso de tales micropartículas codificadas funcionalizadas permite un procesamiento aleatorio, lo que significa que miles de micropartículas codificadas funcionalizadas de manera única pueden mezclarse y someterse a un ensayo simultáneamente. En la solicitud de patente internacional WO 00/63695 se describen ejemplos de micropartículas codificadas funcionalizadas y se ilustran en la figura 1.

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 que puede empaquetarse una pluralidad de micropartículas codificadas funcionalizadas o microportadores 1 (figura 1). El canal microfluídico está dotado de medios de detención que actúan como filtros que permiten que una disolución líquida que contiene reactivos químicos y/o biológicos fluya a su través mientras bloquea los microportadores 1 dentro. La altura geométrica de dichos canales microfluídicos y las dimensiones de dichos microportadores 1 se eligen de modo que dichos microportadores 1 estén dispuestos normalmente en una disposición monocapa dentro de cada canal microfluídico evitando que dichos microportadores 1 se superpongan entre sí.

Esos microportadores codificados funcionalizados 1 que muestran una reacción favorable de interés entre su(s) ligando(s) unido(s) y los reactivos químicos y/o biológicos que fluyen a su través se les puede leer su código, lo que conduce a la identidad del ligando que produjo la reacción favorable.

El código puede comprender un patrón distintivo de una pluralidad de agujeros transversales 2 y también puede incluir una marca de orientación asimétrica tal como, por ejemplo, un signo 3 en forma de L (tal como se muestra en la figura 1) o un triángulo. Esta marca de orientación asimétrica permite la distinción entre la superficie superior 4 y la superficie inferior 5 del microportador 1.

El término canal microfluídico se refiere a un canal cerrado, es decir, un paso alargado para fluidos, con una sección transversal de tamaño microscópico, es decir, siendo la dimensión más pequeña de la sección transversal normalmente de desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 500 micrómetros, preferiblemente desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 200 micrómetros. Un canal microfluídico tiene una dirección longitudinal, que no es necesariamente una línea recta, y que corresponde a la dirección en la que se dirigen los fluidos dentro del canal microfluídico, es decir, preferiblemente de manera esencial a la dirección correspondiente al vector de velocidad promedio 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 puede basarse en la lectura continua de la intensidad de fluorescencia de cada microportador codificado 1 presente en un canal microfluídico, tal como se representa en la figura 2. En otras palabras, la presencia de una molécula diana en el ensayo desencadenará una señal fluorescente predeterminada. Sin embargo, la señal fluorescente predeterminada puede ser muy difícil de detectar debido a la presencia de un fuerte fondo fluorescente.

Se sabe que recubrir los microportadores con una capa óptica aumenta la fluorescencia emitida durante el ensayo hasta un nivel detectable. Por ejemplo, la figura 2 muestra un lote de microportadores recubiertos 1 obtenidos por el método descrito en el documento WO 2011/044708, en donde se deposita una capa óptica en los microportadores 1.

Sin embargo, el resultado del ensayo biológico ilustrado en la figura 2, muestra diferentes patrones de señal fluorescente emitida por los microportadores recubiertos 1. En particular, algunos microportadores 1a emiten una señal fluorescente homogénea y detectable mientras que otros microportadores 1b emiten una señal fluorescente parcialmente o no homogénea, que tiene la mayoría de las veces una forma de luna creciente (en lo sucesivo en el presente documento, "efecto de sombra"). Además, algunos microportadores no emiten ninguna fluorescencia detectable porque están exentos de capa óptica en su superficie.

Dichos defectos dificultan la extracción de información cuantitativa precisa durante el análisis.

La ausencia o la deposición parcial de la capa óptica en algunos microportadores 1b resulta del proceso involucrado en el documento WO 2011/044708. De hecho, este proceso no puede evitar la superposición parcial o total entre varios microportadores 1 antes y durante la deposición de la capa óptica. Tal superposición se muestra en la figura 3, donde un área A de la superficie superior 4 de un microportador 1 se recubrirá mediante una capa óptica, mientras que un área B de la superficie superior 4 de dicho microportador 1, oculta por otro microportador 1', no se recubrirá mediante dicha capa óptica.

Además, durante el proceso descrito en el documento WO 2011/044708, varios microportadores pueden voltearse antes del recubrimiento y, por lo tanto, recubrirse en la superficie incorrecta.

Es más, es imposible separar los microportadores parcialmente recubiertos 1b o los microportadores no recubiertos de los microportadores bien recubiertos 1a antes de realizar el ensayo fluorescente. De hecho, la presencia de una capa óptica en un microportador solo es distinguible mediante una señal fluorescente emitida durante el ensayo fluorescente. En el documento EP 2 312 393 A1 se muestra otro método para producir micropartículas.

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

Con este objetivo, la invención propone un método para producir microportadores que comprende las siguientes etapas:

- (a) proporcionar una oblea que tiene una estructura de tipo sándwich que comprende una capa inferior, una capa superior y una capa aislante ubicada entre dichas capas inferior y superior,
- (b) eliminar por grabado la capa superior para delinear las paredes laterales de los cuerpos de los microportadores,
- (c) depositar una primera capa activa al menos en una superficie superior de los cuerpos,
- (d) aplicar una capa polimérica continua sobre la primera capa activa, antes
- (e) eliminar por grabado la capa inferior y la capa aislante, luego
- (f) retirar la capa polimérica para liberar los microportadores.

Por lo tanto, en el método según la invención, la deposición de la primera capa activa se logra mientras los microportadores todavía están unidos a la oblea, con el fin de evitar los fenómenos de volteo o superposición descritos anteriormente. La primera capa activa se deposita homogéneamente en toda la superficie superior de los cuerpos para evitar el "efecto de sombra" mencionado anteriormente durante el análisis. En consecuencia, se preserva la integridad de los datos para la información cuantitativa precisa referente al/a los ligando(s) y la(s) molécula(s) diana que fluyen a través del microcanal.

Los microportadores también están unidos hasta su liberación, evitando así que los microportadores se dispersen en partes sensibles del equipo utilizado para su preparación, como por ejemplo en las turbobombas.

Opcionalmente, la etapa (c) de deposición de la primera capa activa se realiza entre las etapas (a) y (b) mencionadas anteriormente. En una variante, las etapas (a) a (f) se implementan sucesivamente.

Según una realización, la etapa (e) se realiza mediante un primer grabado para grabar selectivamente la capa inferior mientras se preserva la capa aislante, por ejemplo usando un baño de grabado, y mediante un segundo grabado para grabar la capa aislante, por ejemplo mediante un grabado en seco.

Si la capa inferior comprende silicio monocristalino, el baño de grabado puede ser un baño de hidróxido de potasio. Además, si la capa aislante comprende dióxido de silicio, el grabado en seco podría realizarse mediante grabado con plasma de CHF₃ (fluoroformo) o mediante grabado con plasma de CF₄.

5 La capa polimérica también puede retirarse mediante grabado en seco. Por ejemplo, si la capa polimérica comprende parileno, puede grabarse con plasma de oxígeno.

Además, una marca distintiva, por ejemplo un código, puede estar inscrita en los microportadores, por ejemplo, entre las etapas (b) y (c).

La misma marca distintiva puede atribuirse a una pluralidad de microportadores, por ejemplo, a todos los microportadores que pertenecen a un mismo lote.

10 Por lo tanto, durante un ensayo, pueden usarse simultáneamente diferentes tipos de microportadores y mezclarlos, teniendo cada tipo su propia marca distintiva y soportando uno o más ligando(s) específico(s). En este caso, la marca específica permite identificar el tipo de cada microportador y su ligando unido durante el ensayo.

15 Cuando se inscribe la marca distintiva antes de la deposición de la primera capa activa (etapa c), el grosor de dicha capa y el tamaño de dicha marca distintiva se eligen de modo que la marca distintiva sea legible a través de la primera capa activa.

Además, la capa inferior y/o la capa superior pueden comprender silicio monocristalino, la capa aislante puede comprender dióxido de silicio y la capa polimérica puede comprender parileno. Según otra realización, la capa polimérica es una capa de pegamento que une un soporte a la oblea.

20 Pueden grabarse capas de silicio monocristalino fácil y eficazmente mediante métodos de grabado conocidos, tales como grabado selectivo en baño de hidróxido de potasio.

La capa aislante que comprende dióxido de silicio puede proteger los microportadores mientras graba la capa inferior utilizando un baño de grabado.

La capa de parileno es una capa altamente resistente capaz de mantener los microportadores antes de liberarlos.

25 El uso de un soporte unido a la oblea proporciona propiedades mecánicas potenciadas con el fin de facilitar la manipulación de la oblea durante la producción de los microportadores.

Según una realización de la invención, se deposita una segunda capa activa al menos en una superficie inferior de los cuerpos de los microportadores, por ejemplo, entre las etapas (e) y (f).

30 Los microportadores producidos mediante dicho método comprenden dos capas activas opuestas, respectivamente una primera capa activa en la superficie superior del cuerpo y una segunda capa activa en la superficie inferior del cuerpo.

La primera capa activa y/o la segunda capa activa pueden comprender un material que tiene propiedades ópticas o magnéticas, silicio policristalino y/o politetrafluoroetileno, o una capa metálica que tiene un alto índice de reflexión.

35 El uso de un material que tenga propiedades ópticas aumentará sustancialmente la señal fluorescente emitida desde la superficie correspondiente del microportador. Puede usarse un material que tenga propiedades magnéticas para orientar el microportador en una dirección deseada, por ejemplo. El uso de silicio policristalino aumenta la porosidad de la superficie correspondiente del cuerpo con el fin de aumentar el área efectiva que va a recubrirse en dicha superficie. Finalmente, puede usarse politetrafluoroetileno para reducir la fricción entre el microportador y la superficie sobre la que se apoya durante el ensayo.

40 La primera capa activa y/o la segunda capa activa pueden comprender un óxido o un nitruro, por ejemplo dióxido de silicio, o una capa metálica.

El dióxido de silicio puede usarse para alisar la superficie correspondiente del cuerpo y para aumentar el deslizamiento de moléculas no específicas sobre dicha superficie. Por lo tanto, la señal específica emitida por las moléculas unidas a dicha superficie se potencia mientras que la señal interferente emitida por moléculas no específicas se reduce considerablemente.

45 La invención también se refiere a un microportador obtenido mediante un método según la invención, que comprende un cuerpo que tiene una superficie superior cubierta con una primera capa activa y una superficie inferior cubierta con una segunda capa activa.

50 Cuando las superficies tanto superior como inferior de los cuerpos están cubiertas por una capa activa que comprende un material que tiene propiedades ópticas (capa óptica), puede realizarse un ensayo fiable sea cual sea la orientación del microportador.

La invención puede entenderse mejor y otros detalles, características y ventajas de la invención aparecen al leer la siguiente descripción realizada a modo de ejemplos no limitativos con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

la figura 1 ilustra una vista en perspectiva superior de microportadores según la técnica anterior;

la figura 2 ilustra emisiones fluorescentes en microportadores según la técnica anterior, observadas durante un ensayo;

5 la figura 3 ilustra una vista en perspectiva superior de un lote de microportadores antes de la deposición de una capa óptica en un método de fabricación según la técnica anterior;

las figuras 4 a 12 ilustran las etapas sucesivas del método para producir microportadores según una realización de la invención;

las figuras 13 a 17 ilustran otra realización de la invención;

10 la figura 18 ilustra emisiones fluorescentes en microportadores según la invención, observadas durante un ensayo.

Se describirá un método para producir microportadores según la invención con referencia a las figuras 6 a 17. Este método comprende las siguientes etapas sucesivas:

Una primera etapa, que se muestra en la figura 4, consiste en proporcionar una oblea 6 que tiene una estructura de tipo sándwich, que comprende una capa inferior 7, una capa superior 8 y una capa aislante 9 situada entre dichas capas inferior y superior 7, 8.

15 Por ejemplo, dicha oblea 6 es una oblea de SOI (silicio sobre aislante, *Silicon On Insulator*) que tiene un diámetro de 100 mm, una capa inferior 7 de 380 µm de grosor, una capa aislante 9 de 1 µm de grosor y una capa superior 8 de 10 µm de grosor. La capa superior 8 y la capa inferior 7 están compuestas de silicio monocristalino, y la capa aislante 9 está compuesta de dióxido de silicio.

20 Una segunda etapa, que se muestra en la figura 5, consiste en aplicar una capa de resist fotosensible 10 sobre la capa superior 8. Con el fin de delinear la disposición de la superficie de los microportadores, la capa de resist fotosensible 10 se ilumina con luz UV a través de una máscara (no mostrada), tal como una máscara de cromo/vidrio. Los patrones abiertos en la máscara correspondientes a la disposición del microportador proporcionan una iluminación UV selectiva en el espacio. Los fotoiniciadores reaccionan y comienzan a polimerizar la capa de resist 10 donde el resist ha sido iluminado selectivamente en el espacio. Entonces, la química específica se utiliza para retirar el resist no expuesto y sin reaccionar. El patrón restante de resist endurecido define la forma externa de los microportadores.

25 En una realización preferida en el presente documento, el patrón restante de resist endurecido define además un código tal como un código binario que consiste en una serie de agujeros pasantes en los cuerpos 11 de los microportadores, similar a los agujeros 2 y 3 mostrados en la figura 1.

30 El resist fotosensible 10 puede ser fotorresist positivo o negativo. Un ejemplo de un resist positivo es MICROPOSIT S 1805 PHOTO RESIST suministrado por Shipley Company y un ejemplo de un fotorresist negativo es GM1040 SU-8 PHOTO EPOXY tal como lo suministra Gersteltec Engineering Solutions. La capa de resist fotosensible 10 puede aplicarse sobre la oblea 6 mediante diferentes técnicas conocidas en la técnica, tales como recubrimiento por pulverización, o preferiblemente recubrimiento por rotación.

35 Una tercera etapa, que se muestra en la figura 6, consiste en eliminar por grabado la capa superior 8 para delinear las paredes laterales 12 de los cuerpos 11 de los microportadores. Esto puede hacerse mediante grabado profundo de silicio reactivo (DRIE), como el proceso de Bosch para grabado profundo de silicio basado en DRIE (grabado profundo de iones reactivos).

40 El proceso de Bosch se describe en el documento "J.K. Bhardwaj, H. Ashraf, Proc. SPIE, 2639, 224 (1995); A. Schilp, M. Hausner, M. Puech, N. Launay, H. Karagoezoglu, F. Laermer, Advanced etch tool for high etch rate deep reactive ion etching in silicon micromachining production environment, Proceeding MST 2001, Dusseldorf". El grabado profundo de iones reactivos se describe en el documento "Madou MJ, 2002, Fundamentals of microfabrication, CRC Press".

45 En una cuarta etapa que se muestra en la figura 7, el resist fotosensible 10 se retira en un baño químico húmedo. Por lo tanto, queda una capa limpia de silicio monocristalino que define una serie de cuerpos 11 que están estampados según el diseño de los microportadores.

Una quinta etapa, que se muestra en la figura 8, consiste en depositar una primera capa activa 13 en la superficie superior 14 de los cuerpos 11. Durante la deposición, la primera capa activa 13 también se deposita en el fondo de los huecos 15 formados entre las paredes laterales 12.

50 La primera capa activa 13 es una capa que tiene propiedades ópticas, tal como una capa de óxido que comprende dióxido de silicio. El grosor de la primera capa 13 es aproximadamente de entre 90 y 120 nm cuando se trabaja con etiquetas rojas de fluorescencia. También puede utilizarse cualquier otro material dieléctrico, tal como un nitruro, o una capa metálica.

Pueden usarse diferentes tipos de métodos de deposición de óxido, tal como PECVD (deposición química de vapor asistida por plasma, *Plasma-enhanced chemical vapor deposition*), evaporación o pulverización iónica (Madou MJ, 2002, Fundamentos of microfabrication, CRC Press). Para la deposición de dióxido de silicio a partir de la técnica PECVD, puede usarse una mezcla de gases tal como diclorosilano o silano y oxígeno, normalmente a presiones de desde unos pocos cientos de miliTorr hasta unos pocos Torr. La deposición del dióxido de silicio se realiza con una temperatura comprendida en un intervalo de desde la temperatura ambiente hasta 300°C.

Una sexta etapa, que se muestra en la figura 9, consiste en aplicar una capa de polímero 16 sobre la primera capa activa 13, por ejemplo, una capa de parileno o una capa hecha de un material conocido con las referencias ProTEK, AZ PC 520D o SX AR-PC 5000/40, proporcionados respectivamente por las empresas Brewer Science, Microchemical y Allresist. El grosor de dicha capa polimérica 16 puede estar entre de 1 µm a 100 µm. Esta capa polimérica se aplica, por ejemplo, por deposición química de vapor (CVD) o por recubrimiento por rotación. Una séptima etapa, que se muestra en la figura 10, consiste en eliminar por grabado la capa inferior 7 y la capa aislante 9.

La eliminación por grabado de la capa inferior 7 se realiza moliendo una porción principal de la capa inferior 7 y grabando el resto de la capa inferior 7 mediante un grabado con baño que consiste en sumergir la oblea de SOI en un baño de hidróxido de potasio. Luego, la capa aislante 9 se elimina completamente por grabado mediante grabado con plasma de CHF₃ (fluoroformo) o mediante grabado con plasma de CF₄. Se controla la velocidad de grabado de la capa aislante. Con el fin de producir microportadores bicapa, el método según la primera realización de la invención comprende una octava etapa, que se muestra en la figura 11, que consiste en depositar una segunda capa activa 17 sobre la superficie inferior 18 de los cuerpos 11 de los microportadores. La segunda capa activa 17 también tiene propiedades ópticas, tales como una capa de óxido que comprende dióxido de silicio. El grosor de la segunda capa 17 es aproximadamente de entre 90 y 120 nm cuando se trabaja con etiquetas rojas de fluorescencia. También puede usarse cualquier otro material dieléctrico, tal como un nitruro o una capa metálica.

La segunda capa activa 17 puede depositarse con el mismo método utilizado para la deposición de la primera capa activa 13.

La capa polimérica 16 se elimina entonces por grabado con el fin de separar y liberar los microportadores de doble capa 19, como se muestra en la figura 12a, por ejemplo mediante plasma de oxígeno. Se controla la velocidad de grabado. Los microportadores 19 obtenidos mediante dicho método comprenden cada uno un cuerpo 11 que tiene una primera capa activa 13 en su superficie superior 14 y una segunda capa activa 17 en su superficie inferior 18. Cada capa activa 13, 17 cubre de manera homogénea y continua la correspondiente superficie 14, 18 del cuerpo 11.

Las figuras 13 a 17 ilustran otra realización del método según la invención.

En esta realización, la oblea 6 mostrada en la figura 8 se obtiene con las mismas cinco etapas.

Luego, en una sexta etapa (figura 13), se cubre un soporte 21 con una capa de pegamento 22. El soporte 21 es, por ejemplo, una oblea hecha de silicio, cuarzo o vidrio y tiene un grosor de aproximadamente 300 a 700 µm. El pegamento es, por ejemplo, una resina referenciada como WaferBOND HT10.10 o CR200 y proporcionada por la compañía Brewer Science. El grosor de la capa de pegamento 22 es aproximadamente de 10 a 100 µm, y preferiblemente es de aproximadamente 50 µm.

En una séptima etapa, que se muestra en la figura 14, el soporte 21 se une a la oblea 6 a través de la capa de pegamento 22 que se pone en contacto con y se adhiere a la primera capa activa 13. Dicha unión se realiza preferiblemente presionando y calentando la oblea 6, el soporte 21 y la capa de pegamento 22.

En una variante, la capa de pegamento 22 se aplica directamente sobre la primera capa activa 13 y el soporte 21 se aplica sobre la capa de pegamento 22.

Una octava etapa, que se muestra en la figura 15, consiste en eliminar por grabado la capa inferior 7 y la capa aislante 9. Esta etapa de grabado es similar a la realizada en la figura 10.

Luego puede depositarse una segunda capa activa 17 sobre la superficie inferior 18 de los cuerpos 11 de los microportadores (figura 16).

Luego, el soporte 21 se separa de la oblea 6 retirando la capa de pegamento 22. Dicha eliminación puede hacerse calentando la capa de pegamento 22 o usando un disolvente. Así, los microportadores bicapa 19 se separan y se liberan, tal como se muestra en la figura 17.

El soporte 21 proporciona propiedades mecánicas mejoradas con el fin de facilitar la manipulación de la oblea 6 durante la producción de los microportadores.

Tal como se muestra en la figura 13, durante un ensayo, la superficie funcionalizada de cada microportador 19 emitirá una señal fluorescente homogénea de modo que se evite el "efecto sombra" mencionado anteriormente. Por lo tanto, el uso de tales microportadores 19 proporciona información cuantitativa precisa durante el ensayo.

El uso de microportadores bicapa 19 es útil cuando es difícil controlar la orientación de los microportadores durante el análisis.

Por el contrario, si la orientación de los microportadores puede controlarse, solo la superficie superior 14 de los cuerpos 11 puede cubrirse con una capa activa 13.

- 5 Con este objetivo, otra realización del método según la invención propone grabar la capa polimérica 16 directamente después de la séptima etapa, que se muestra en la figura 10, o eliminar la capa de pegamento 22 (con el fin de separar el soporte 21 de la oblea 6) directamente con la etapa que se muestra en la figura 15.

10 En esta realización, tal como se muestra en la figura 12b, se liberan microportadores 20 que tienen solo una capa activa 13. Esta realización implica un método menos complejo, que permite la producción de microportadores 20 menos costosos.

En cada realización, los microportadores liberados 19, 20 pueden mantenerse en suspensión en recipientes o envases de líquidos hasta su uso en un ensayo. Cada microportador 19, 20 se moldea preferiblemente en forma de disco y tiene un diámetro de entre 1 y 200 μm , por ejemplo 40 μm .

- 15 Otras realizaciones de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la consideración de la memoria descriptiva y la práctica de la invención descrita en el presente documento. Se pretende que la memoria descriptiva y el ejemplo se consideren solo a modo de ejemplo, indicándose el verdadero alcance de la invención mediante las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un método para producir microportadores (19, 20) que comprende las siguientes etapas:
 - (a) proporcionar una oblea (6) que tiene una estructura de tipo sándwich que comprende una capa inferior (7), una capa superior (8) y una capa aislante (9) situada entre dichas capas inferior y superior (7, 8),
- 5 (b) eliminar por grabado la capa superior (8) para delinear las paredes laterales (12) de los cuerpos (11) de los microportadores (19, 20),
- (c) depositar una primera capa activa (13) al menos en una superficie superior (14) de los cuerpos (11),
- (d) aplicar una capa polimérica (16, 22) continua sobre la primera capa activa (13), antes
- (e) eliminar por grabado la capa inferior (7) y la capa aislante (9), luego
- 10 (f) retirar la capa polimérica (16, 22) para liberar los microportadores (19, 20).
2. Un método según la reivindicación 1, en donde la etapa (e) se realiza mediante un primer grabado para grabar selectivamente la capa inferior (7), por ejemplo usando un baño de grabado, y mediante un segundo grabado para grabar selectivamente la capa aislante (9), por ejemplo mediante un grabado en seco.
3. Un método según la reivindicación 1 o 2, en donde la capa polimérica (16) se retira mediante grabado en seco.
- 15 4. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde se inscribe una marca distintiva, por ejemplo, un código (2, 3), en los microportadores (19, 20), por ejemplo, entre las etapas (b) y (c).
5. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la capa inferior (7) y/o la capa superior (8) comprenden silicio monocristalino.
- 20 6. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la capa aislante (9) comprende dióxido de silicio.
7. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la capa polimérica (16) comprende parileno.
8. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 y 4 a 6, en donde la capa polimérica es una capa de pegamento (22) que une un soporte (21), por ejemplo, una oblea hecha de silicio, cuarzo o vidrio, a la oblea (6).
- 25 9. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde se deposita una segunda capa activa (17) al menos sobre una superficie inferior (18) de los cuerpos (11) de los microportadores (19), por ejemplo entre las etapas (e) y (f).
- 30 10. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la primera capa activa (13) y/o la segunda capa activa (17) comprenden un material que tiene propiedades ópticas o magnéticas, silicio policristalino y/o politetrafluoroetileno, o una capa metálica que tiene un alto índice de reflexión.
11. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde la primera capa activa (13) y/o la segunda capa activa (17) comprenden un óxido o un nitruro, por ejemplo dióxido de silicio, o una capa metálica.

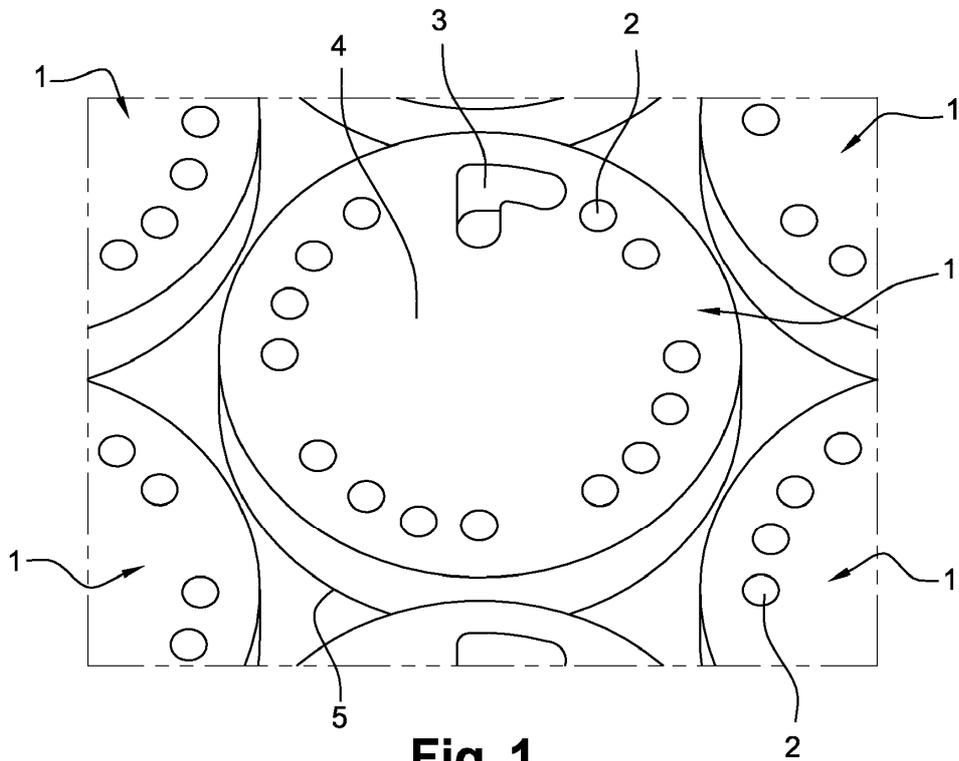
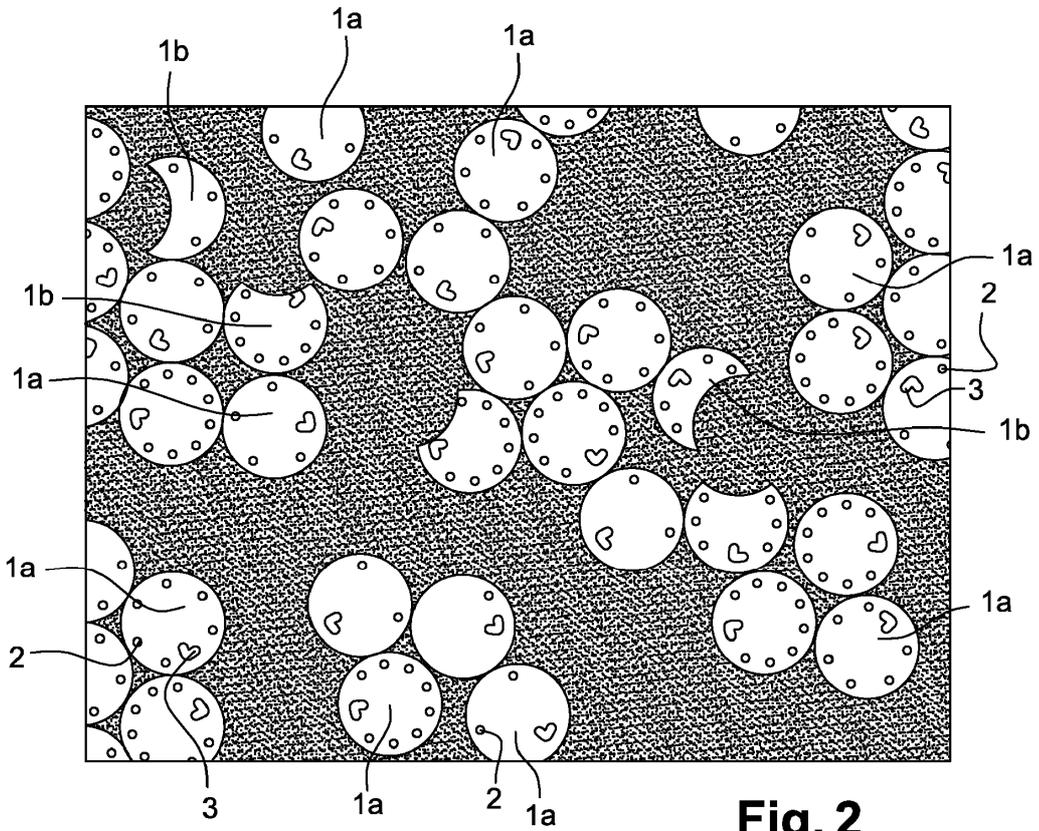


Fig. 1



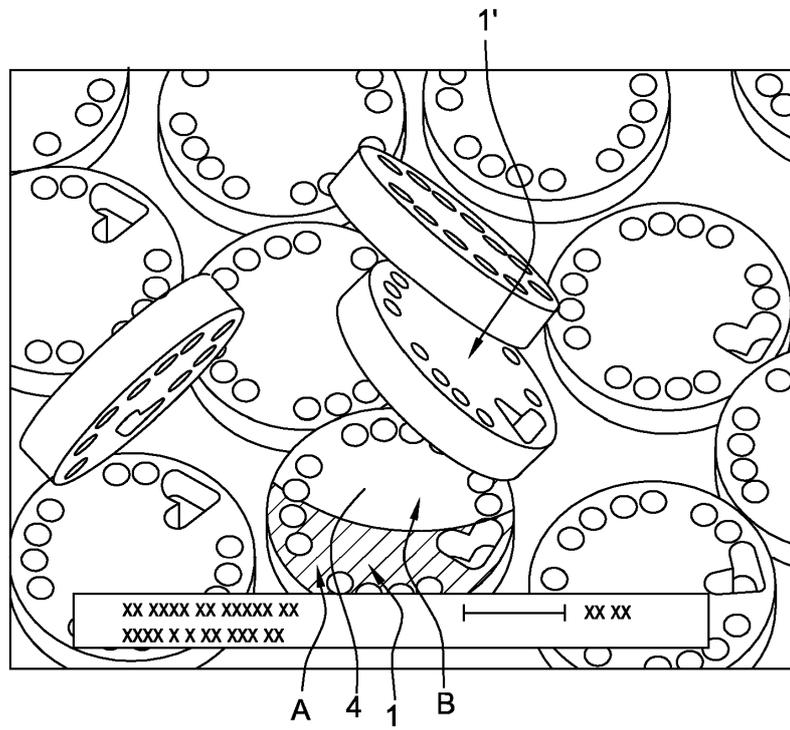
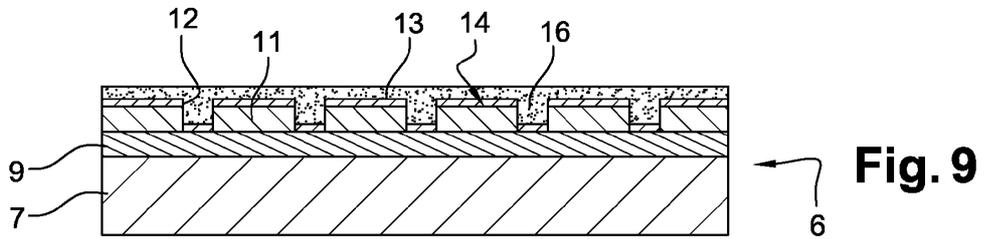
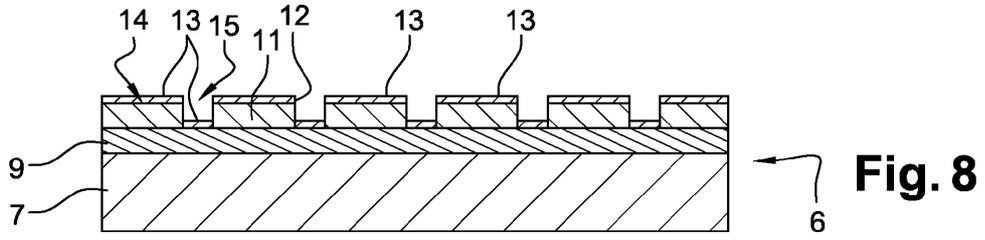
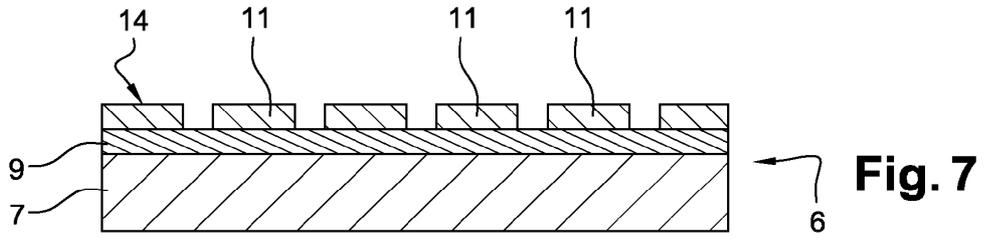
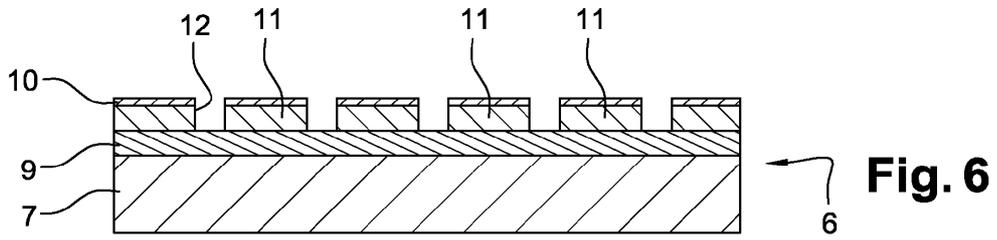
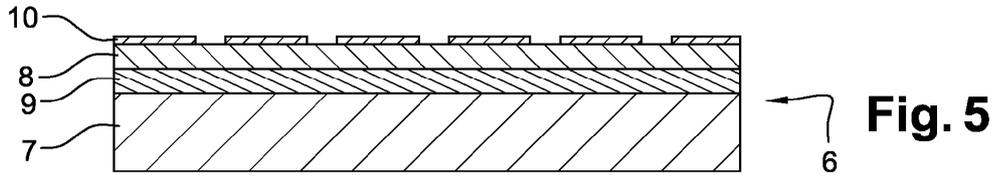
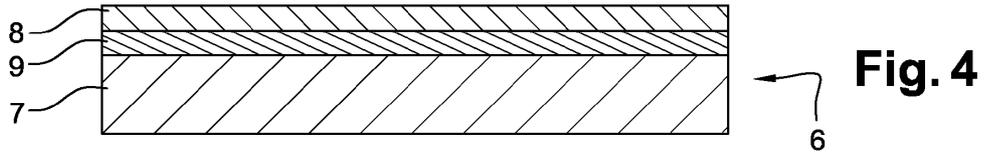


Fig. 3



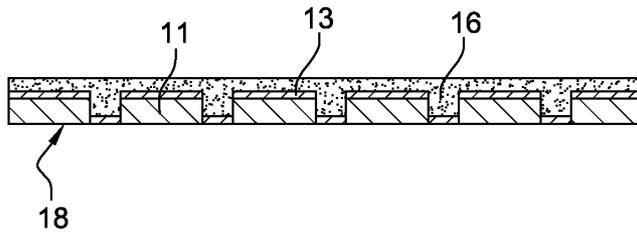


Fig. 10

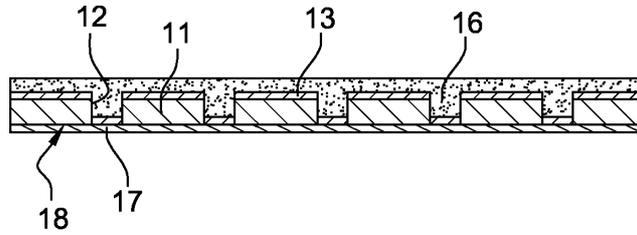


Fig. 11

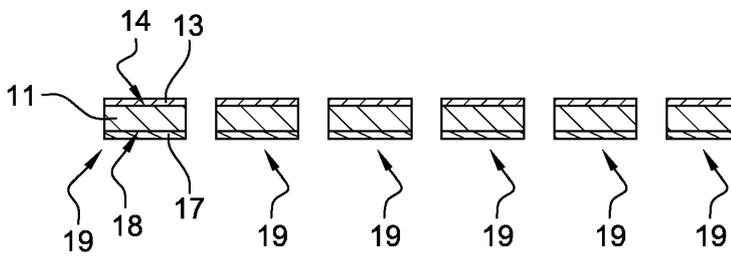


Fig. 12a

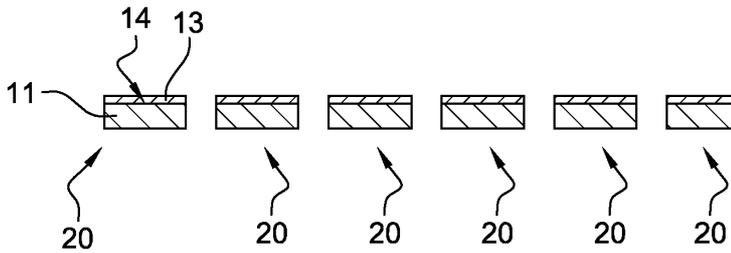


Fig. 12b

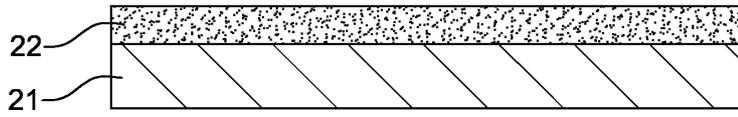


Fig. 13

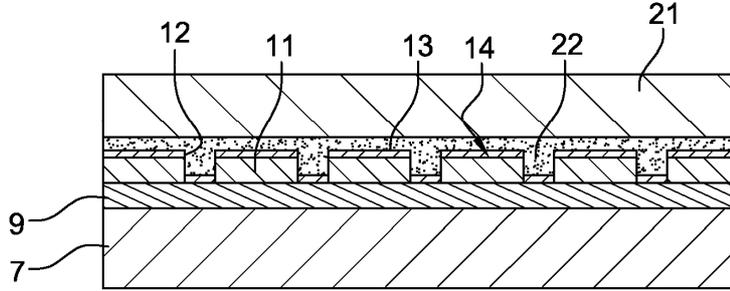


Fig. 14

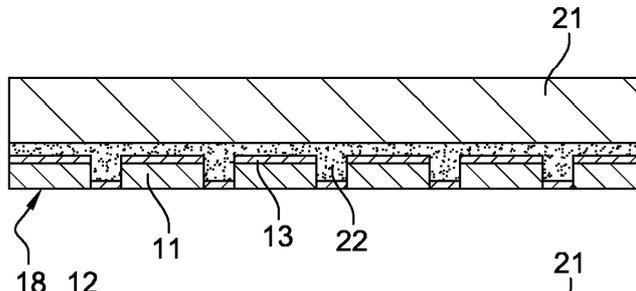


Fig. 15

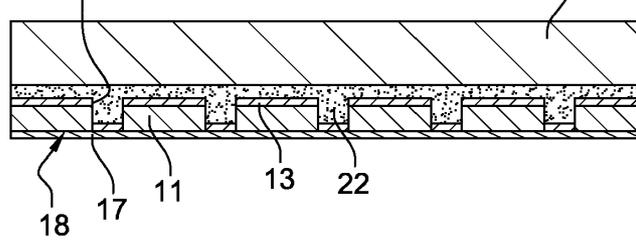


Fig. 16

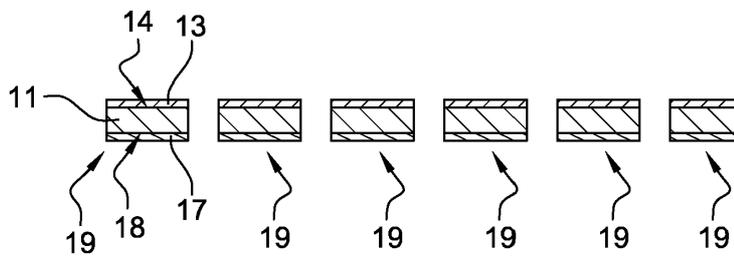


Fig. 17

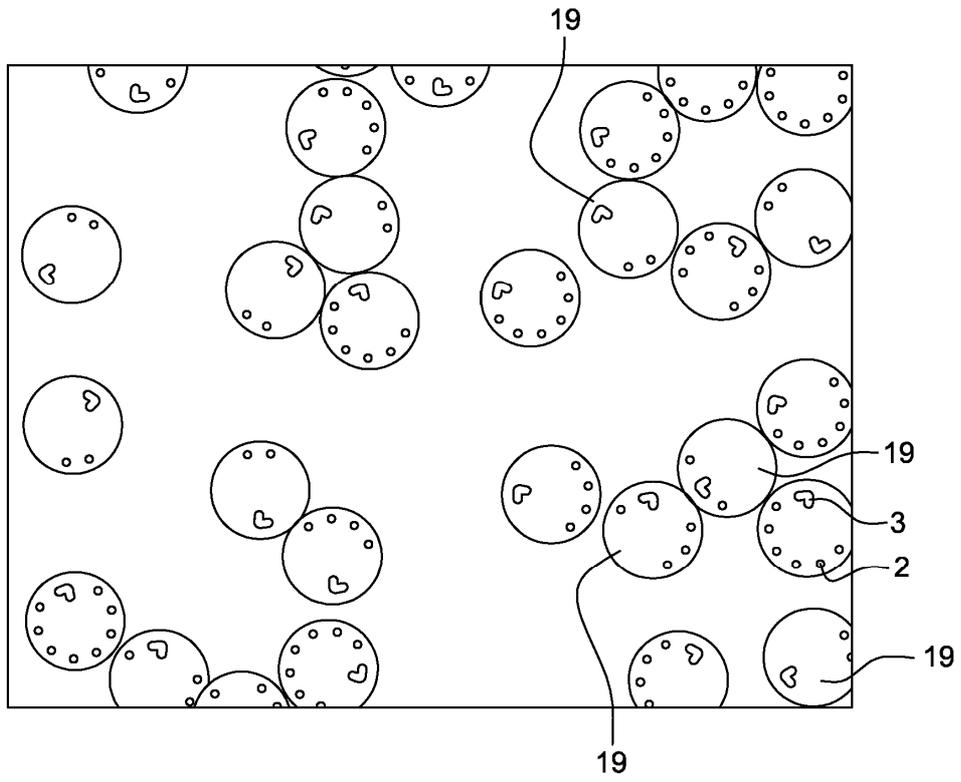


Fig. 18