

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 814 335**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/6825 (2008.01)

B01J 20/26 (2006.01)

G01N 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.11.2016 PCT/EP2016/076572**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.10.2017 WO17178081**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.11.2016 E 16831566 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2020 EP 3443111**

54 Título: **Termopares que comprenden un recubrimiento polimérico para la detección de analitos y procedimientos relacionados**

30 Prioridad:

11.04.2016 EP 16164646

11.04.2016 US 201615095653

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

26.03.2021

73 Titular/es:

UNIVERSITEIT MAASTRICHT (50.0%)

Minderbroedersberg 4-6

6211 LK Maastricht, NL y

ACADEMISCH ZIEKENHUIS MAASTRICHT

(50.0%)

72 Inventor/es:

VAN GRINSVEN, BART ROBERT NICOLAAS y

CLEIJ, THOMAS JAN

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 814 335 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

Termopares que comprenden un recubrimiento polimérico para la detección de analitos y procedimientos relacionados

5 **Campo técnico**

Las realizaciones de la presente divulgación se refieren generalmente a dispositivos y procedimientos para detectar analitos usando un termopar que tiene un material polimérico sobre el mismo.

10 **Antecedentes**

Los polímeros impresos molecularmente (MIP) se pueden usar para detectar sustancias químicas en mezclas complejas. En la investigación moderna, estos polímeros son de creciente interés para aplicaciones bioanalíticas. Las ventajas de usar estos MIP incluyen una producción fácil y barata; estabilidad mecánica, química y térmica; reutilización; y larga vida útil. En los últimos años, el concepto de impresión molecular se ha extendido a la impresión superficial de películas de polímero delgadas con celdas de tamaño micrométrico para crear los llamados "polímeros impresos en la superficie" (SIP) para la detección de proteínas, glucoproteínas, virus vegetales, virus humanos, bacterias, polen, células de levadura e incluso glóbulos rojos de mamíferos. Los SIP son materiales poliméricos con hendiduras en la superficie, con una forma y una función que coinciden con parte de un objetivo deseado. Los SIP son adecuados para unirse con objetos más grandes (por ejemplo, células, bacterias, etc.) que no se difunden rápidamente a través de los poros de un MIP. La impresión puede ocurrir después de la polimerización ablandando el polímero. La detección de células usando biosensores descritos en la literatura se realiza típicamente mediante detección gravimétrica, plataformas de lectura electrónica o técnicas de microfluidos. Sin embargo, estas técnicas suelen consumir mucho tiempo, proporcionan dificultades para el análisis o requieren equipos costosos.

Por ejemplo, la resistencia a la temperatura de sustratos que tienen MIP unidos a ellos con base en la concentración de analitos se describe en la publicación de la solicitud de patente de los Estados Unidos No. 2014/0011198 A1, "Heat-Transfer Resistance Based Analysis Bioparticles", publicada el 9 de enero de 2014.

Una plataforma de sensor de bajo coste capaz de diferenciar entre células con ligeras diferencias de forma, tamaño y funcionalidades en grupos funcionales en su superficie sería una herramienta valiosa para la investigación moderna y la industria.

35 **Divulgación**

La presente invención se define en las reivindicaciones adjuntas. En algunas realizaciones, un dispositivo para detectar un analito incluye un termopar recubierto con un polímero de ensayo. El polímero de ensayo está formulado para unirse al analito, y una propiedad de transferencia de calor del polímero de ensayo varía en respuesta a una cantidad del analito unido al mismo.

Un procedimiento para formar un sensor incluye recubrir un termopar con un polímero de ensayo. El polímero de ensayo está formulado para unirse a un analito, y el polímero de ensayo está formulado de tal manera que una propiedad de transferencia de calor del polímero de ensayo varía en respuesta a una cantidad del analito unido al mismo.

En ciertas realizaciones, un procedimiento para detectar un analito incluye pasar un líquido que contiene un analito adyacente y en contacto con un termopar recubierto con un polímero de ensayo, unir un analito al polímero de ensayo, detectar una temperatura del termopar, y calcular una concentración de un analito en el líquido basándose al menos en parte en la propiedad de transferencia de calor del polímero de ensayo. Una propiedad de transferencia de calor del polímero de ensayo se formula para variar en respuesta a una cantidad del analito unido al mismo.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un diagrama esquemático simplificado que muestra un dispositivo para detectar un analito;
 55 Las Figuras 2A a 2C son diagramas esquemáticos simplificados que muestran cómo el dispositivo de la Figura 1 puede usarse para detectar un analito;
 Las Figuras 3A a 3C son diagramas esquemáticos simplificados que muestran comparativamente cómo reaccionarían otros dispositivos cuando se exponen a un analito en las condiciones mostradas en las Figuras 2A a 2C;
 60 La Figura 4 es una vista expandida simplificada que muestra cómo una onda térmica puede viajar en el dispositivo de la Figura 1 a 2C;
 La Figura 5 es un gráfico que muestra las isotermas de unión para dopamina medidas de acuerdo con una realización de la divulgación;
 La Figura 6A es un gráfico que muestra los requisitos de potencia para diferentes concentraciones de dopamina
 65 que pasan sobre los dispositivos como se muestra en las Figuras 1 a 3C;

La Figura 6B es un gráfico que muestra temperaturas para diferentes concentraciones de dopamina que pasan sobre los dispositivos como se muestra en las Figuras 1 a 3C; y

La Figura 7 es un gráfico que muestra curvas de dosis-respuesta que comparan la respuesta de dispositivos de acuerdo con una realización de la divulgación.

5

Modo o modos para llevar a cabo la invención

Las ilustraciones presentadas en el presente documento no son vistas reales de ningún dispositivo o procedimiento en particular, sino que son representaciones simplemente idealizadas empleadas para describir ejemplos de realizaciones de la presente divulgación. Los elementos comunes entre las figuras pueden conservar la misma designación numérica.

Como se usa en el presente documento, el término "molécula plantilla" se refiere a una molécula usada para formar un polímero impreso molecularmente (MIP) o un polímero impreso en la superficie (SIP). Dichos MIP o SIP pueden detectar "moléculas objetivo" o "compañeros de unión", que tienen una geometría que corresponde al menos parcialmente a las moléculas plantilla utilizadas para formar el MIP o SIP.

Como se usa en el presente documento, el término "es posible" abarca la palabra "puede", y el término "puede ser" abarca las palabras "es" o "son", dependiendo del contexto. Además, la presencia de la palabra "es posible" pretende explicar las opciones para practicar o implementar la divulgación, sin limitación.

La Figura 1 es un diagrama esquemático simplificado que muestra un dispositivo 200 para detectar un analito. En algunas realizaciones, el dispositivo 200 puede estar configurado para detectar una molécula objetivo, un ácido nucleico tal como ADN y/o ARN, polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en ADN y/o ARN, moléculas pequeñas, proteínas, etc.

El dispositivo 200 puede incluir un termopar 210 recubierto con un material 212 opcional base y con un polímero 214 de ensayo sobre una superficie del mismo (por ejemplo, formado directamente sobre una superficie del termopar 210 o sobre otro material en una superficie del termopar 210). Por ejemplo, el material 212 base puede formarse sobre una superficie generalmente cilíndrica del termopar 210, de modo que se encierra un extremo completo del termopar 210. En algunas realizaciones, la superficie exterior del termopar 210 puede tener cualquier forma de sección transversal apropiada, tal como un círculo, cuadrado, rectángulo, etc. Es decir, el termopar 210 no necesita ser cilíndrico, sino que puede tener una forma de "cinta", etc. El termopar 210 puede incluir una unión entre dos materiales formulados para proporcionar un voltaje dependiente de la temperatura entre los contactos 216, 218 eléctricos. En algunas realizaciones, el termopar 210 puede incluir uno o más de un metal (por ejemplo, platino, oro, iridio, paladio, etc.) o una aleación (por ejemplo, una aleación de níquel, una aleación de cobre, una aleación de rodio, una aleación de renio, una aleación de hierro, una aleación de molibdeno, etc.). El termopar 210 puede ser, por ejemplo, cualquier termopar estándar disponible comercialmente, tal como un termopar tipo E (es decir, cromel y constantán); un termopar tipo J (es decir, hierro y constantán); un termopar tipo K (es decir, cromel y aluminio); un termopar tipo M (es decir, nicrosil y nisil); un termopar tipo T (es decir, cobre y constantán); un termopar tipo B, R o S (es decir, aleaciones de platino-rodio); un termopar tipo C, D o G (es decir, aleaciones de tungsteno-renio); un termopar tipo P (es decir, aleaciones de paladio-oro-platino); etc.

El material 212 base puede ser un material polimérico tal como ácido (L)-poliláctico, al que se puede hacer referencia en la técnica como PLLA. El PLLA es transparente, económico de producir a partir de fuentes ambientalmente renovables (por ejemplo, almidón o productos agrícolas que contienen azúcar), biodegradable y biocompatible. Además, el PLLA puede solubilizarse en cloroformo para permitir la aplicación al termopar 210. El material 212 base puede seleccionarse para que sea otro material en lugar de PLLA, con base en las propiedades deseadas. En algunas realizaciones, el material 212 base puede incluir poliuretano, ácido poliláctico, policaprolactona, poli(ácido láctico-co-glicólico), poli(D,L-láctico-co-glicólico) u otro polímero seleccionado. El material 212 base puede estar en forma de un recubrimiento delgado, liso y homogéneo sobre el exterior del termopar 210. La uniformidad del material 212 base puede permitir que el dispositivo 200 produzca resultados reproducibles. El grosor del material 212 base puede variar proporcionalmente con la resistencia térmica del 212 al flujo de calor hacia o fuera del termopar 210. Por lo tanto, un material 212 base más delgado puede ser beneficioso para aplicaciones en las que se desea una respuesta rápida o diferenciales de temperatura más pequeños.

El material 212 base puede seleccionarse para que sea elástico, de modo que el dispositivo 200 pueda ser flexible para permitir la flexión del termopar 210 sin romper el material 212 base. Esto puede permitir que el dispositivo 200 se use para aplicaciones que requieren un espacio libre estrecho o curvas (por ejemplo, uso *in vivo* en catéteres).

El polímero 214 de ensayo puede estar sobre una superficie del material 212 base. En algunas realizaciones, el polímero 214 de ensayo puede unirse directamente a la superficie del termopar 210, y el material 212 base puede omitirse. Es decir, el polímero 214 de ensayo puede estar sobre y en contacto con el termopar 210. Típicamente, el polímero 214 de ensayo puede rodear el termopar 210. El polímero 214 de ensayo puede incluir un material para el cual la propiedad de transferencia de calor varía en respuesta a una cantidad del analito unido al mismo. Por ejemplo,

65

la conductividad térmica, la difusividad térmica, la capacidad calorífica u otra propiedad del polímero 214 de ensayo puede variar con la concentración del analito en la superficie del mismo.

5 En algunas realizaciones, el polímero 214 de ensayo puede incluir un polímero impreso, tal como un polímero impreso molecularmente (MIP) o un polímero impreso en la superficie (SIP). Los MIP y SIP también pueden denominarse en la técnica como anticuerpos "plásticos". Los MIP típicamente poseen una alta afinidad por un compañero de unión específico, de modo que cuando tales compañeros de unión se ponen en contacto con el MIP, las moléculas se unen con el MIP. Los MIP son receptores sintéticos que contienen nanocavidades con alta afinidad por sus respectivas moléculas objetivo. La impresión (es decir, la formación de las nanocavidades) es a menudo parte del proceso de polimerización. Los MIP pueden unir específicamente objetivos que varían desde iones pequeños hasta células grandes en matrices complejas. La unión de las moléculas al MIP puede alterar algunas propiedades del MIP, tales como propiedades térmicas, propiedades mecánicas, propiedades eléctricas, etc. Por lo tanto, los MIP pueden usarse para detectar tales moléculas a concentraciones relativamente bajas. Los MIP se describen, por ejemplo, en la publicación de la solicitud de patente de los Estados Unidos No. 2009/0281272 A1, "Monodisperse Molecularly Imprinted Polymer Beads", publicada el 12 de noviembre de 2009.

20 De manera similar, los SIP típicamente poseen una alta afinidad por un compañero de unión específico, pero típicamente pueden unirse a objetos relativamente más grandes (por ejemplo, células, bacterias, etc.) que no se difunden rápidamente a través de los poros de un MIP. Los SIP pueden ser materiales poliméricos formados sobre una superficie, luego impresos después de la polimerización ablandando el polímero.

Cuando el dispositivo 200 está en contacto con un líquido que porta el analito, una parte del analito puede unirse al polímero 214 de ensayo, cambiando la propiedad de transferencia de calor del mismo.

25 En ciertas realizaciones, el polímero 214 de ensayo puede incluir ADN, ARN, proteínas o porciones o análogos de los mismos (por ejemplo, anticuerpos). Por ejemplo, el dispositivo 200 puede incluir un material 212 base (por ejemplo, una superficie de diamante) funcionalizado con un polímero 214 de ensayo tal como ADN, ARN, una proteína, un polipéptido, un polímero de ácido nucleico, una sonda o una porción o análogo de los mismos (por ejemplo, ADN complementario). El polímero 214 de ensayo puede configurarse para poseer una alta afinidad por un compañero de unión específico, de modo que cuando tales compañeros de unión se ponen en contacto con la superficie del termopar 210, las moléculas se unen con el polímero 214 de ensayo. En algunas realizaciones, el polímero 214 de ensayo puede incluir al menos aproximadamente siete (7) unidades repetidas, tal como diez (10) unidades repetidas o más.

35 En algunas realizaciones, el dispositivo 200 puede incluir un procesador 223 en contacto eléctrico con el termopar 210 y programado para calcular una cantidad del analito unido al polímero 214 de ensayo. El procesador 223 puede calcular una concentración del analito en un líquido en contacto con el dispositivo 200 con base, al menos en parte, en la cantidad del analito unido al polímero 214 de ensayo. Por ejemplo, el procesador 223 puede calcular la cantidad del analito mediante un procedimiento como se divulga en la publicación de la solicitud de patente de los Estados Unidos No. 2014/0011198 A1, "Heat-Transfer Resistance Based Analysis Bioparticles", publicada el 9 de enero de 2014; o la publicación de la solicitud de patente de los Estados Unidos No. 2014/0242605 A1, "Heat-Transfer Resistance Based Analysis of Bioparticles", publicada el 28 de agosto de 2014. En ciertas realizaciones, el procesador 223 puede usarse para detectar un cambio de fase entre una onda térmica en o que emana de un disipador de calor y una onda térmica atenuada en el termopar 210. El procesador 223 puede calcular la concentración del analito en el líquido basándose al menos en parte en una diferencia de amplitud entre la onda térmica en el disipador de calor y la onda térmica atenuada en el termopar 210.

45 Las Figuras 2A a 2C ilustran cómo el dispositivo 200 mostrado en la Figura 1 puede usarse para detectar un analito 132 en un líquido 124. El líquido 124 puede pasar adyacente al termopar 210. El líquido 124 puede incluir un analito 132 que se une específicamente al polímero 214 de ensayo y cambia sus propiedades térmicas, como se describió anteriormente. Un disipador 230 de calor puede proporcionar calor al líquido 124. Aunque se denomina "disipador" de calor en aras de la simplicidad, el disipador 230 de calor puede estar configurado para proporcionar calor o eliminar calor del líquido 124 y, por lo tanto, puede también caracterizarse como un elemento 230 de transferencia de calor. El disipador de calor o elemento 230 de transferencia de calor puede ser un material que tenga una alta conductividad térmica, tal como un metal de transición (por ejemplo, cobre, plata, etc.) o una aleación o mezcla de los mismos. El disipador 230 de calor puede estar acoplado térmicamente a un sensor 232 de temperatura (por ejemplo, un termopar u otro dispositivo) configurado para detectar una temperatura del disipador 230 de calor, y a un dispositivo 234 de modificación de temperatura configurado para mantener la temperatura del disipador 230 de calor. Si se conocen las propiedades del disipador 230 de calor (por ejemplo, si una relación entre una señal de control para el dispositivo 234 de modificación y la temperatura del disipador 230 de calor está bien caracterizada), el sensor 232 de temperatura puede omitirse. En algunas realizaciones, el sensor 232 de temperatura puede ser integral al dispositivo 234 de modificación de temperatura. Por ejemplo, la resistencia del propio dispositivo 234 de modificación de temperatura puede medirse para determinar su temperatura. El dispositivo 234 de modificación de temperatura puede incluir, por ejemplo, un dispositivo termoeléctrico, un intercambiador de calor, un ventilador, un calentador de resistencia, etc. El sensor 232 de temperatura puede ser una resistencia que tenga una resistencia que varía con la temperatura. La temperatura del líquido 124 puede ser diferente de la temperatura del disipador 230 de calor, y puede variar con base al menos en parte a la presencia o ausencia del analito 132 y su concentración en el líquido 124.

El sensor 232 de temperatura y el dispositivo 234 de modificación de temperatura pueden conectarse a un procesador 236 programado para controlar el dispositivo 234 de modificación de temperatura para hacer que el disipador 230 de calor produzca una onda térmica que emana del disipador 230 de calor y a través del líquido 124 al termopar 210. Por ejemplo, el procesador 236 puede ser un ordenador que tiene una tarjeta de entrada-salida configurada para recibir y proporcionar señales eléctricas, o cualquier otro controlador adecuado. El procesador 236 puede ser un controlador proporcional-integral-derivado (PID) capaz de cambiar la temperatura del disipador 230 de calor en una pequeña cantidad en una escala de tiempo relativamente corta. Por ejemplo, el procesador 236 puede programarse para cambiar la temperatura del disipador 230 de calor en aproximadamente 0,5 °C o menos, aproximadamente 0,2 °C o menos, o incluso aproximadamente 0,05 °C o menos. Por lo tanto, la onda térmica puede tener una amplitud de aproximadamente 1,0 °C o menos, aproximadamente 0,4 °C o menos, o incluso aproximadamente 0,10 °C o menos. El procesador 236 puede ser capaz de cambiar la temperatura del disipador 230 de calor a través del dispositivo 234 de modificación de temperatura de un punto de ajuste a otro y viceversa para formar una onda térmica que tiene una frecuencia de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 0,5 Hz, tal como de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 0,1 Hz, o de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,05 Hz. En algunas realizaciones, el procesador 236, el dispositivo 234 de modificación de temperatura y el disipador 230 de calor pueden producir juntos una onda térmica que tiene una frecuencia variable. Con base en una medición del sensor 232 de temperatura (si está presente), se puede conocer una entrada reconocida al dispositivo 234 de modificación de temperatura, u otros medios, propiedades de la onda térmica (por ejemplo, una fase, amplitud, frecuencia en un momento específico, tasa de cambio de frecuencia, etc.).

Como se muestra en la Figura 2A, el líquido 124 puede estar sustancialmente libre del analito 132 de interés en un punto en el tiempo, y el polímero 214 de ensayo también puede estar sustancialmente libre del analito 132 en ese momento. Por lo tanto, el calor (indicado por las flechas en la Figura 2A) puede transferirse desde el disipador 230 de calor a través del líquido 124 al termopar 210 y a lo largo del termopar 210 a una velocidad relacionada con las propiedades de transferencia de calor del polímero 214 de ensayo sin unirse con el analito 132 (porque el termopar 210 en sí mismo puede proporcionar una resistencia térmica mínima).

En otro momento, mostrado en la Figura 2B, el líquido 124 puede tener una concentración distinta de cero del analito 132, y parte del analito 132 puede unirse al polímero 214 de ensayo. Por lo tanto, el calor puede transferirse desde el disipador 230 de calor a través del líquido 124 al termopar 210 a una velocidad diferente a la mostrada en la Figura 2A (como se indica mediante las flechas en la Figura 2B). En aún otro momento, mostrado en la Figura 2C, el líquido 124 puede tener una concentración más alta del analito 132 que la mostrada en la Figura 2B, y más del analito 132 puede unirse al polímero 214 de ensayo. Por lo tanto, el calor puede transferirse desde el disipador 230 de calor a través del líquido 124 al termopar 210 a una velocidad diferente a la mostrada en las Figuras 2A y 2B. Por ejemplo, un aumento en la cantidad del analito 132 unido al polímero 214 de ensayo puede disminuir la velocidad de transferencia de calor a través del polímero 214 de ensayo al termopar 210.

La concentración del analito 132 en el líquido 124 puede calcularse basándose al menos en parte en una propiedad de transferencia de calor del polímero 214 de ensayo (que puede deducirse basándose, por ejemplo, en la cantidad de calor transferido al termopar 210 en función del tiempo).

Para fines de comparación, las Figuras 3A a 3C ilustran cómo un termopar 210 'que tiene un polímero 214' que no tiene afinidad por el analito 132 (por ejemplo, un polímero no impreso) puede funcionar en condiciones similares a las mostradas en las Figuras 2A a 2C. En la Figura 3A, el líquido 124 puede estar sustancialmente libre del analito 132 de interés en un punto en el tiempo, y el polímero 214' también puede estar sustancialmente libre del analito 132 en ese momento. En otro momento, mostrado en la Figura 3B, el líquido 124 puede tener una concentración distinta de cero del analito 132, aunque el analito 132 puede no unirse al polímero 214' en una cantidad apreciable. Por lo tanto, el calor (indicado por las flechas en la Figura 3A) puede transferirse desde el disipador 230 de calor a través del líquido 124 al termopar 210 a la misma velocidad mostrada en la Figura 3A. En otro momento, mostrado en la Figura 3C, el líquido 124 puede tener una concentración más alta del analito 132 que la mostrada en la Figura 3B, sin embargo, el analito 132 todavía puede no unirse al polímero 214' en una cantidad apreciable. Una parte del analito 132 puede unirse al polímero 214', particularmente para concentraciones altas del analito 132 en el líquido 124, pero la cantidad de analito 132 unido puede ser mucho menor que la cantidad unida al polímero 214 de ensayo (Figura 2C) a concentraciones similares. El calor puede transferirse desde el disipador 230 de calor a través del líquido 124 al termopar 210' a velocidades sustancialmente similares sin importar la concentración del analito 132 en el líquido 124.

Con referencia de nuevo a las Figuras 2A a 2C, un procesador 236 (que puede ser o incluir el procesador 223 mostrado en la Figura 1, o que puede estar en comunicación electrónica con el procesador 223) puede programarse para calcular una concentración del analito 132 en el líquido 124 basado al menos en parte en una onda térmica que emana a través del líquido 124. Por ejemplo, el disipador 230 de calor puede causar un cambio en la temperatura del líquido 124, y puede formar una onda térmica a través del líquido 124. El procesador 236 puede determinar una diferencia en amplitud y/o fase entre la onda térmica proporcionada por el disipador 230 de calor y una onda térmica atenuada en el termopar 210. La diferencia en amplitud y/o fase puede usarse para determinar la cantidad del analito 132 unido al polímero 214 de ensayo, que a su vez puede usarse para determinar la concentración del analito 132 en el líquido 124.

En algunas realizaciones, el procesador 236 puede implementar un cambio de frecuencia de la onda térmica producida por el disipador 230 de calor. El procesador 236 puede entonces detectar un cambio de fase entre la onda térmica producida por el disipador 230 de calor y una onda térmica atenuada en el líquido 124 después de que la onda térmica pase a través del polímero 214 de ensayo y el material 212 base al termopar 210.

La Figura 4 es una representación esquemática simplificada que muestra cómo la onda térmica puede viajar dentro y hacia el interior del dispositivo 200 de la Figura 1. La Figura 4 incluye algunos de los componentes mostrados en las Figuras 1 y 2A a 2C, pero los muestra separados para permitir la representación de ondas térmicas que viajan a través y entre los componentes. En particular, la Figura 4 muestra el disipador 230 de calor acoplado térmicamente al dispositivo 234 de modificación de temperatura y el sensor 232 de temperatura, que están conectados al procesador 236.

El disipador 230 de calor puede producir una onda 202 térmica y transferir la onda 202 térmica al líquido 124 hacia el polímero 214 de ensayo en el termopar 210. Por ejemplo, si el disipador 230 de calor se mantiene inicialmente a una temperatura constante de 37 °C, la onda 202 térmica puede producirse calentando el disipador 230 de calor a una temperatura de 37,1 °C y luego enfriando el disipador 230 de calor a una temperatura de 36,9 °C. El calentamiento y enfriamiento del disipador 230 de calor, accionado por el dispositivo 234 de modificación de temperatura, puede hacer que el polímero 214 de ensayo y el termopar 210 se calienten y enfríen de la manera correspondiente. La onda 202 térmica puede tener una amplitud α_1 y una frecuencia φ_1 . La amplitud α_1 y/o la frecuencia φ_1 pueden variar con el tiempo. Por ejemplo, la onda 202 térmica puede tener una frecuencia continuamente variable φ_1 .

Como se discutió anteriormente, la presencia o ausencia del analito 132 en el polímero 214 de ensayo puede cambiar la conductividad térmica, la difusividad térmica, la capacidad de calor u otra propiedad del polímero 214 de ensayo. El polímero 214 de ensayo puede definir cavidades adaptadas para interactuar con al menos una porción del analito 132. Sin estar vinculados a ninguna teoría particular, las cavidades se pueden configurar para actuar para unirse específicamente al analito 132. Por lo tanto, el polímero 214 de ensayo puede recibir partículas o moléculas del analito 132 del líquido 124 en algunas de las cavidades, con base en la concentración del analito 132 en el líquido 124. El líquido 124 y el polímero 214 de ensayo pueden alcanzar el equilibrio a una temperatura dada, de modo que el analito 132 se une y se separa del polímero 214 de ensayo a velocidades iguales. Las propiedades térmicas del polímero 214 de ensayo pueden depender en parte de la fracción de las cavidades unidas a partículas o moléculas del analito 132.

El polímero 214 de ensayo y/o el analito 132 sobre el mismo pueden alterar la onda 202 térmica que pasa a través del mismo para formar una onda 204 térmica atenuada. La onda 204 térmica atenuada puede ser detectada por el termopar 210 y registrada por el procesador 236. La onda 204 térmica atenuada puede tener una amplitud α_2 y una frecuencia φ_2 , que puede ser diferente de la amplitud α_1 y una frecuencia φ_1 de la onda 202 térmica. Las diferencias en las amplitudes α_1 , α_2 y/o las frecuencias φ_1 , φ_2 pueden correlacionarse con la cantidad del analito 132 unido al polímero 214 de ensayo y, por lo tanto, con la concentración del analito 132 en el líquido 124. La medición de las diferencias en las amplitudes α_1 , α_2 y/o las frecuencias φ_1 , φ_2 puede permitir que el dispositivo 200 detecte cantidades relativamente menores del analito 132 unido al polímero 214 de ensayo (correspondiente a concentraciones más bajas del analito 132 en el líquido 124) en comparación con los procedimientos para medir la temperatura del termopar 210 en estado estacionario.

Con referencia nuevamente a la Figura 1, para formar el dispositivo 200, el termopar 210 puede recubrirse con el material 212 base. Por ejemplo, el termopar 210 puede recubrirse por inmersión con el material 212 base sumergiendo una porción del termopar 210 en un líquido que contiene el material 212 base o un precursor del mismo. El recubrimiento por inmersión se puede realizar de manera eficiente y escalable para producir cantidades en masa, con una uniformidad relativamente alta en comparación con otros procedimientos. El recubrimiento por inmersión del alambre se describe, por ejemplo, en la patente de los Estados Unidos No. 4.924.037, "Electrical Cable", otorgada el 8 de mayo de 1990. El recubrimiento por inmersión puede formar el material 212 base para que sea relativamente delgado, de modo que el material 212 base tenga una baja resistividad térmica intrínseca que las capas más gruesas del polímero. Por ejemplo, el material 212 base puede tener un espesor de aproximadamente 0,01 mm a aproximadamente 1 mm, tal como de aproximadamente 0,05 mm a aproximadamente 0,5 mm.

El termopar puede recubrirse con el polímero 214 de ensayo, ya sea sobre y asegurado al material 212 base (por ejemplo, directamente sobre una superficie del material 212 base o sobre otro material sobre una superficie del material 212 base) o directamente sobre la superficie del termopar 210. En algunas realizaciones, un termopar 210 con un material 212 base sobre el mismo puede calentarse de manera que el material 212 base se ablande. Por ejemplo, el material 212 base puede calentarse a una temperatura superior a su temperatura de transición vítrea (T_g). El termopar 210 y el recubrimiento del material 212 base pueden entonces enrollarse en un polvo del polímero 214 de ensayo para unir el polímero 214 de ensayo al material 212 base. El material 212 base puede enfriarse para retener las partículas del polímero 214 de ensayo, tal como enfriando el material 212 base a una temperatura inferior a T_g . El tiempo entre la unión de las partículas del polímero 214 de ensayo y el enfriamiento del material 212 base puede mantenerse relativamente corto, de modo que las partículas del polímero 214 de ensayo puedan incrustarse de manera segura en el material 212 base sin quedar cubiertas por el polímero 212. Por ejemplo, el termopar 210 puede colocarse en un

refrigerador para enfriar el material 212 base dentro de un período de tiempo de aproximadamente 1 segundo a aproximadamente 60 segundos después de recubrir con el polímero 214 de ensayo. El termopar 210 puede permanecer en el refrigerador hasta que el material 212 base está en una fase sólida (por ejemplo cristalina). Por ejemplo, el termopar 210 puede permanecer en el refrigerador durante un período de tiempo de aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 20 minutos. Después de enfriar, el termopar 210 puede lavarse en un líquido (por ejemplo, agua, alcohol, etc.) para eliminar partículas sueltas o no unidas del polímero 214 de ensayo de la superficie del material 212 base.

Sin estar ligado a ninguna teoría particular, parece que por encima de T_g , los polímeros se ablandan y plastifican, lo que significa que el tiempo que el termopar 210 gasta por encima de T_g puede permitir que las partículas del polímero 214 de ensayo se hundan o se unan al material 212 base.

El procesador 236 (por ejemplo, un controlador PID) puede estar conectado eléctricamente al dispositivo 234 de modificación de temperatura para proporcionar potencia suficiente para controlar la temperatura del disipador 230 de calor, y hacer que el dispositivo 234 de modificación de temperatura cambie la temperatura del disipador 230 de calor para producir la onda 202 térmica (Figura 4).

El termopar 210 puede estar dispuesto dentro de un flujo del líquido 124 a medir. El disipador 230 de calor se puede asegurar a un conducto a través del cual pasa el líquido 124, o se puede disponer dentro del flujo del líquido 124. El procesador 236 se puede configurar para detectar continuamente la temperatura en el termopar 210 y el sensor 232 de temperatura, y para calcular la concentración del analito 132 en el líquido 124 basado al menos en parte en un cambio de fase entre la onda 202 térmica (Figura 4) producida por el disipador 230 de calor y la onda 204 térmica atenuada (Figura 4) en el termopar 210.

El dispositivo 200 mostrado y descrito puede configurarse para detectar cualquiera de una amplia gama de analitos 132 seleccionados. Por ejemplo, el dispositivo 200 puede usarse para detectar, percibir o cuantificar analitos biológicos u otros productos químicos en el líquido 124. El analito 132 puede ser un gas, líquido o sólido disuelto o mezclado con el líquido 124. Por ejemplo, el dispositivo 200 puede usarse para detectar, percibir, cuantificar analitos, anticuerpos, antígenos, ácidos nucleicos (por ejemplo, ADN, ARN, etc.), incluidos los ácidos nucleicos con secuencias particulares (por ejemplo, SNP), proteínas, moléculas pequeñas (por ejemplo, dopamina, histamina, etc.) u otras sustancias. En algunas realizaciones, el dispositivo 200 puede usarse para detectar histamina, dopamina, serotonina, adrenalina, metilfenidato, etc.

Una de las muchas características atractivas de los procedimientos de impresión molecular divulgados en este documento es que los procedimientos pueden aplicarse a una amplia gama de analitos. La impresión de moléculas orgánicas pequeñas (por ejemplo, productos farmacéuticos, pesticidas, aminoácidos y péptidos, bases de nucleótidos, esteroides, azúcares, etc.) se describen, por ejemplo, en K. Haupt y K. Mosbach, "Molecularly Imprinted Polymers and Their Use in Biomimetic Sensors", *Chem. Rev.* 100, 2495-2504 (2000); y G. Mustafa y P. Lieberzeit, "MIP Sensors on the Way to Real-World Applications", en *Springer Series on Chemical Sensors and Biosensors*, vol. 12, páginas 167-187 (Springer, 2012). Los compuestos orgánicos algo más grandes (por ejemplo, péptidos) también pueden imprimirse mediante enfoques similares. Se han propuesto protocolos para imprimir estructuras más grandes, tales como proteínas, células y cristales minerales, por ejemplo, en M. Kempe, M. Glad, y K. Mosbach, "An Approach Towards Surface Imprinting Using the Enzyme Ribonuclease A," *J. Molecular Recognition*, 8, 35-39 (1995); S. Hjerten et al., "Gels Mimicking Antibodies in Their Selective Recognition of Proteins", *Chromatographia* 44, 227-234 (1997); H. Shi et al., "Template-Imprinted Nanostructured Surfaces for Protein Recognition", *Nature* 398, 593-597 (1999); A. Aherne et al., "Bacteria-Mediated Lithography of Polymer Surfaces," *J. Am. Chem. Soc.* 118, 8771-8772 (1996); y S. M. D'Souza, et al., "Directed Nucleation of Calcite at a Crystal-Imprinted Polymer Surface", *Nature* 398, 312-316 (1999). La impresión molecular como puente para el suministro avanzada de medicamentos se describe en B. Sellergren y C. Allender, "Molecularly Imprinted Polymers: A Bridge to Advanced Drug Delivery", *Advanced Drug Delivery Reviews* 57, 1733-1741 (2005).

Para detectar el analito 132, el líquido 124 que contiene el analito 132 puede pasar a través de un conducto adyacente al polímero 214 de ensayo sobre el termopar 210. Las partículas o moléculas del analito 132 se unen al polímero 214 de ensayo, cambiando una o más propiedades térmicas del polímero 214 de ensayo. El líquido 124 puede fluir continuamente adyacente al polímero 214 de ensayo durante la detección, o el flujo puede terminar antes de que comience la detección. La onda 202 térmica (Figura 4) y la onda 204 térmica atenuada pueden viajar a través del líquido 124 tanto si el líquido 124 fluye como si está estancado. Las propiedades térmicas del líquido 124 pueden diferir para los líquidos 124 fluidos y estancados, pero pueden determinarse en función de las propiedades del flujo. En algunas realizaciones, el líquido 124 puede llevarse a una temperatura de prueba antes de la detección del analito 132. Como se discutió anteriormente, el polímero 214 de ensayo puede ser un polímero impreso molecularmente formulado para unir un analito 132 particular de interés.

La onda 202 térmica (Figura 4) se proporciona desde el disipador 230 de calor ajustable al termopar 210 a través del polímero 214 de ensayo. El procesador 236 (por ejemplo, un controlador PID) puede cambiar la temperatura del disipador 230 de calor a través del dispositivo 234 de modificación de temperatura, tal como elevando la temperatura y bajando la temperatura del disipador 230 de calor en una cantidad preseleccionada y a una frecuencia preseleccionada. El cambio en la temperatura del disipador 230 de calor puede ser lo suficientemente pequeño como

para que el cambio no interfiera significativamente con otras mediciones que pueden ocurrir simultáneamente. Por ejemplo, la temperatura promedio del líquido 124 puede medirse aunque la temperatura del disipador 230 de calor varíe, siempre que la escala de tiempo de la medición de temperatura promedio sea más larga que la frecuencia de la variación y/o la cantidad de la variación de temperatura sea pequeña en comparación con el cambio de temperatura inducido por la interacción del analito 132 con el polímero 214 de ensayo. En algunas realizaciones, el disipador 230 de calor puede proporcionar una onda 202 térmica que tiene una frecuencia de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 0,5 Hz, tal como de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 0,1 Hz, o de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,05 Hz. Además, la frecuencia de la onda 202 térmica puede variar durante la prueba (por ejemplo, la frecuencia puede variar continuamente de una frecuencia baja a una frecuencia alta o viceversa). La onda 202 térmica puede tener una amplitud de aproximadamente 1,0 °C o menos, aproximadamente 0,4 °C o menos, o incluso aproximadamente 0,10 °C o menos.

La temperatura del termopar 210 puede probarse, y el resultado puede compararse con la temperatura del disipador 230 de calor (medido en el termopar 232).

La concentración del analito 132 en el líquido 124 puede calcularse al menos en parte en un cambio de fase entre la onda 202 térmica producida por el disipador 230 de calor y la onda 204 térmica atenuada en el termopar 210. Una comparación de la onda 202 térmica y la onda 204 térmica atenuada pueden ser realizadas por el procesador 236 con base en las respuestas de líquidos de concentración conocida. En algunas realizaciones, la comparación de la onda 202 térmica con la onda 204 térmica atenuada puede basarse al menos en parte en las amplitudes, el desplazamiento de fase u otra propiedad.

La medición de la onda térmica permite la medición de la resistencia térmica sin cambiar significativamente la temperatura global del polímero 214 de ensayo. Sin limitarse a ninguna teoría particular, dicha medición parece ser un análogo térmico de la medición de capacitancia o inductancia en el campo de la electrónica. Por ejemplo, medir la resistencia revela cierta información sobre un dispositivo o material electrónico, pero medir la capacitancia o la impedancia revela información adicional, tal como la forma en que el dispositivo o el material responde a una carga. De manera similar, medir la resistencia térmica mediante los procedimientos divulgados en este documento puede revelar información adicional que no puede medir una diferencia de temperatura en estado estacionario.

Por ejemplo, cuando se aplica una onda térmica, están disponibles diferentes tipos de información en forma de un cambio en la amplitud, frecuencia y/o fase de la onda térmica atenuada tras la unión de un objetivo al receptor. El cambio de fase puede variar de acuerdo con la frecuencia de la entrada. La cantidad de información proporcionada por una onda térmica es mayor que el análisis de estado estacionario, y la información puede permitir la detección o diferenciación de una variedad más amplia de materiales.

Además, y de nuevo sin estar ligado a ninguna teoría particular, puede producirse un aumento en la masa térmica del polímero 214 de ensayo tras la unión del analito 132 a su receptor (es decir, las cavidades en el mismo). Antes de la unión del analito 132, las cavidades pueden llenarse con líquido. Al unirse el analito 132 a su receptor, el líquido puede ser reemplazado por el analito 132, aumentando así la masa térmica de todo el termopar 210 recubierto.

Ejemplos

Ejemplo 1: Preparación de MIP que tiene una plantilla para detectar dopamina.

Se adquirieron dimetacrilato de etilenglicol (EGDM), ácido metacrílico (MAA), sal clorhidrato de dopamina (99%) y metanol a través de Acros Organics (Loughborough, Reino Unido). Antes de la polimerización, los estabilizadores en el MAA y EGDM se eliminaron por filtración sobre alúmina. Se adquirieron 4,4'-azobis(ácido 4-cianovalerico) y sulfato de serotonina y creatinina monohidratado (98%) a través de Sigma-Aldrich (Gillingham, Reino Unido).

Una mezcla de MAA (0,54 g, 6,6 mmol), EGDM (2,96 g, 14,9 mmol) y 4,4'-azobis (ácido 4-cianovalerico) (65 mg) se disolvió en metanol (3,67 ml) y agua (0,57 ml) junto con dopamina (0,063 g, 0,33 mmol), y la molécula plantilla. Esta mezcla se desgasificó con N₂ y se calentó para iniciar la polimerización. Para permitir la finalización completa de la reacción, la mezcla se mantuvo a 65 °C durante 12 horas. Después de la polimerización, el polímero en masa se molió y se tamizó para obtener micropartículas con diámetros menores de 10 µm. La dopamina se eliminó de los polvos de MIP mediante extracción continua con una mezcla 50/50 de metanol y agua. Después de 6 horas, el MIP estaba sustancialmente libre de dopamina, como se verificó mediante espectroscopía AT-IR con un dispositivo de FT-IR, NICOLET^{MR} 380 de Thermo Scientific (Loughborough, Reino Unido). Posteriormente, el polvo de MIP se secó en un horno durante 12 horas a 100 °C. Se sintetizó un polímero no impreso (NIP) como control de acuerdo con el mismo procedimiento, pero sin la presencia de la dopamina.

Ejemplo 2: Prueba de MIP para detectar dopamina

La especificidad y las isoterms de unión de las partículas de MIP y NIP se determinaron mediante experimentos ópticos de unir nuevamente por lotes con un espectrofotómetro UV-Visible Agilent 8453 (Santa Clara, California). Para los experimentos de unir nuevamente, se añadieron 20 mg de polvo de MIP o NIP a 5 ml de soluciones acuosas de dopamina en concentraciones entre 0,3 a 1,0 mM. Las suspensiones resultantes se agitaron durante 12 horas en una

5 mesa oscilante a temperatura ambiente. Posteriormente, las suspensiones se filtraron y la concentración libre de dopamina (C_f) se determinó por espectroscopía UV-Vis. Las concentraciones unidas (S_b) de dopamina se calcularon por gramo de MIP y NIP e isothermas de unión, y se muestran en la Figura 5. Al ajustar las isothermas de unión, se determinó la especificidad del MIP hacia la plantilla de dopamina. Para probar la selectividad, se utilizó la molécula competidora de serotonina, ya que su estructura es muy similar a la dopamina. Para estos experimentos, se añadieron 20 mg de polvo de MIP a 5 ml de soluciones acuosas de serotonina y se determinaron las isothermas de unión después de la filtración de las suspensiones.

10 La Figura 5 muestra que hay una diferencia significativa en la unión entre el MIP y su referencia, el NIP. Para determinar la especificidad, se usó el factor de impresión (IF), que es la cantidad unida al MIP dividida por la cantidad unida al NIP de referencia a una concentración seleccionada. Las isothermas de unión se ajustaron con un ajuste de dos parámetros del siguiente tipo para analizar el factor de impresión a una concentración específica (Ecuación 1):

$$15 \text{ Ecuación 1: } S_b = A \cdot C_f^r$$

15 La ecuación 1 corresponde a la isoterma de Freundlich y puede usarse para ajustar las isothermas de unión a MIP si se supone que la distribución de los sitios de unión y las constantes de afinidad son heterogéneas. A $C_f = 0,3 \text{ mM}$, el IF fue $3,1 \pm 0,1$, mientras que las concentraciones más altas arrojaron valores de IF ligeramente más bajos (-2,5) debido a la saturación de los sitios de unión. Los resultados fueron comparables a otros MIP de dopamina en la literatura. La respuesta del MIP a la serotonina competidora no fue significativamente diferente a la referencia, lo que demuestra la selectividad del sistema.

20 **Ejemplo 3:** Preparación de termopares recubiertos con MIP

25 El PLLA se mezcló con cloroformo a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ bajo reflujo de agua durante 120 minutos para asegurar la disolución del PLLA y una pérdida insignificante de cloroformo. La concentración de la solución resultante fue de $200 \text{ } \mu\text{g/ml}$.

30 Se obtuvieron termopares tipo K con aislamiento mineral que tenían diámetros de $0,5 \text{ mm}$ y longitudes de 30 cm de TC Direct, de Nederweert, Países Bajos. Los termopares se sumergieron en la solución de PLLA- cloroformo durante 10 segundos y se retiraron a una velocidad de $0,39 \text{ cm/min}$. El cloroformo se evaporó para dejar un recubrimiento de PLLA que tenía un espesor de aproximadamente $0,09 \text{ mm}$ ($90 \text{ } \mu\text{m}$) sobre los termopares.

35 Los termopares recubiertos con PLLA se calentaron a la temperatura de transición vítrea del polímero PLLA, entre $65 \text{ }^\circ\text{C}$ y $75 \text{ }^\circ\text{C}$. Los termopares se recubrieron manualmente con el polvo de MIP o NIP formado en el Ejemplo 1. Posteriormente, los termopares recubiertos se colocaron en un refrigerador a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ durante aproximadamente 5 minutos para permitir que el polímero PLLA vuelva a su estado cristalino. Los termopares se lavaron luego con isopropanol para eliminar las partículas de MIP o NIP sueltas o excesivamente asociadas para dejar partículas de MIP o NIP unidas de forma segura.

40 **Ejemplo 4:** Procedimiento de transferencia de calor para la detección de dopamina con termopares recubiertos con MIP

45 Se preparó una solución salina tamponada con fosfato (PBS) 1x con tabletas Dulbecco obtenidas de Oxoid Limited (Basingstoke, Reino Unido). Los termopares recubiertos con MIP y NIP se expusieron secuencialmente en una celda de flujo a concentraciones fijas de dopamina en una solución tampón de solución salina tamponada con fosfato (PBS). Se bombearon soluciones de dopamina en concentraciones de $0,5 \text{ } \mu\text{M}$, $1 \text{ } \mu\text{M}$, $2 \text{ } \mu\text{M}$, $5 \text{ } \mu\text{M}$, $10 \text{ } \mu\text{M}$, $15 \text{ } \mu\text{M}$, $20 \text{ } \mu\text{M}$, $25 \text{ } \mu\text{M}$ y $50 \text{ } \mu\text{M}$ en sucesión ascendente. Al principio, la celda de flujo se enjuagó con PBS y se dejó durante al menos 45 minutos para permitir que se produzca la estabilización de la temperatura. Posteriormente, se añadieron 3 ml de la concentración más baja ($0,5 \text{ } \mu\text{M}$) durante 12 minutos, a una velocidad constante de $0,25 \text{ ml/min}$. Antes de la adición de la siguiente concentración, la celda de flujo se dejó equilibrar durante 30 minutos. Por lo tanto, se mantuvo un patrón de adición de 12 minutos mediante bombeo constante y estabilización de 30 minutos a lo largo de cada medición. Un elemento de calentamiento de cobre en la celda de flujo en contacto con la solución se mantuvo a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ controlando un voltaje a través de una resistencia en contacto térmico con el elemento de calentamiento de cobre. Se registró el cambio de voltaje requerido para mantener la temperatura, y se muestra en la Figura 6A.

55 Como se observa en la Figura 6B, las concentraciones crecientes de dopamina corresponden a un aumento en la temperatura del termopar recubierto con MIP ($T_2 \text{ MIP}$). Además, el voltaje requerido para mantener el elemento de cobre a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ($V \text{ MIP}$) disminuye simultáneamente con el aumento de la concentración de dopamina. Cuando el elemento calefactor de cobre se mantiene a una temperatura de $37 \text{ }^\circ\text{C}$, la solución tampón en la celda de flujo está a una temperatura de aproximadamente $32,5 \text{ }^\circ\text{C}$, y las citas del receptor en el recubrimiento de MIP están desocupadas. También se muestra en la Figura 6B, que la temperatura del termopar recubierto con NIP ($T_2 \text{ NIP}$) se mantuvo constante durante todo el experimento. Además, el voltaje requerido para mantener el elemento de cobre a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ($V \text{ NIP}$) no disminuyó cuando aumentó la concentración de dopamina. El experimento con MIP se repitió dos veces más para investigar la reproducibilidad del procedimiento de unión utilizado, con resultados similares.

Las Figuras 6A y 6B muestran que no hay una respuesta significativa del termopar recubierto con NIP a ninguna de las adiciones de dopamina-PBS. Esto indica que el recubrimiento de MIP es la fuente de las variaciones de temperatura observadas entre el termopar recubierto con MIP y el termopar recubierto con NIP.

5 La temperatura para los termopares recubiertos con MIP (T_2 MIP) fue constante a aproximadamente 32,5 °C para las primeras cuatro adiciones de dopamina-PBS. Tras la adición de 10 μM de dopamina, hubo un aumento significativo en T_2 , que continúa para las concentraciones posteriores más altas. Esto puede explicarse por un cambio en la resistencia térmica de los receptores del MIP. La pérdida de calor ocurre a través de receptores desocupados, que parecen estar presentes para las primeras cuatro adiciones de dopamina-PBS a los termopares recubiertos con MIP, así como para todas las adiciones a los termopares recubiertos con NIP. Tras la ocupación de los MIP por dopamina, parece crearse una capa de aislamiento, disminuyendo la pérdida de calor a través del termopar; por lo tanto, la temperatura general de la celda de flujo aumenta a un máximo de 33,5 °C para concentraciones superiores a 20 μM de DA. El aumento de la temperatura medida por el termopar recubierto con MIP puede explicarse por la retención de energía térmica por la capa aislante.

15 El aumento de la temperatura medida (T_2) va acompañado de una disminución del voltaje sobre la resistencia de potencia (V MIP), lo que significa que se necesita menos potencia para mantener el elemento de cobre a 37 °C constante, ya que la pérdida de calor de la celda de flujo ha disminuido. Mientras tanto, V NIP se mantiene constante durante todo el experimento. Se encontró que la temperatura ambiente era estable a temperatura ambiente, lo que significa que un cambio en T_2 no podría atribuirse a un cambio en la temperatura ambiente. Por lo tanto, el aumento de T_2 parece corresponder a la ocupación de MIP por la dopamina.

20 Además, debido a que V MIP está asociado con un cambio en T_2 , la concentración de dopamina en el líquido puede inferirse basándose en una medición de V MIP solo, T_2 solo, tanto de V MIP como de T_2 en combinación.

25 La Figura 7 compara las curvas de dosis-respuesta para termopares recubiertos con MIP y NIP cuando se exponen a diversas concentraciones de dopamina. Para los MIP, hay un aumento en la respuesta con el aumento de las concentraciones de dopamina. Los datos sugieren que el límite de detección de dopamina por los termopares recubiertos con MIP como se preparó en el Ejemplo 3 puede ser aproximadamente 5 μM de dopamina y que la saturación de MIP puede alcanzarse entre aproximadamente 20 μM y 25 μM de dopamina. Los termopares recubiertos con NIP no mostraron ninguna respuesta significativa al aumento de las concentraciones de dopamina.

35 Los termopares y sensores como se describe en el presente documento pueden ofrecer beneficios en comparación con los sensores convencionales. Por ejemplo, los termopares pueden ser relativamente más fáciles de preparar, porque los procedimientos tales como el recubrimiento por inmersión pueden ajustarse a cantidades de producción mientras se conservan características uniformes (reproducibles). Además, aunque un termopar puede tener un área superficial mucho más pequeña que un sustrato plano, la sensibilidad de detección de un termopar por unidad de superficie puede ser mayor que la sensibilidad de detección de sustratos planos. Por lo tanto, el termopar puede ser más pequeño y más sensible. Por lo tanto, se pueden usar termopares y sensores para microfluidos y pruebas *in vivo*, aplicaciones para las que los sustratos planos pueden no ser prácticos. El recubrimiento de termopares puede ser relativamente más fácil que el recubrimiento de sustratos planos porque puede ser necesario un volumen menor de líquido.

45 Aunque la presente divulgación se ha descrito en el presente documento con respecto a ciertas realizaciones ilustradas, los expertos en la materia reconocerán y apreciarán que no está tan limitada. Por el contrario, se pueden hacer muchas adiciones, eliminaciones y modificaciones a las realizaciones ilustradas. Además, las características de una realización pueden combinarse con las características de otra realización mientras estén abarcadas dentro del alcance de la divulgación de acuerdo con lo contemplado por los inventores. Además, las realizaciones de la divulgación tienen utilidad con diferentes y diversos dispositivos y procedimientos de detección.

50

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un dispositivo (200) de detección de un analito (132), comprendiendo el dispositivo:
un termopar (210) recubierto con un polímero (214) de ensayo, estando el polímero de ensayo formulado para unirse al analito, en el que la propiedad de transferencia de calor del polímero de ensayo varía en respuesta a una cantidad del analito unido al mismo.
- 10 2. El dispositivo de la reivindicación 1, que comprende además un procesador (223) en contacto eléctrico con el termopar, estando el procesador programado para calcular una cantidad del analito unido al polímero de ensayo.
3. El dispositivo de la reivindicación 2, en el que el procesador está programado para calcular una concentración del analito en un líquido en contacto con el polímero de ensayo basado, al menos en parte, en la cantidad del analito unido al polímero de ensayo.
- 15 4. El dispositivo de la reivindicación 3, en el que el procesador está programado para detectar un cambio de fase entre una onda térmica en un elemento de transferencia de calor y una onda térmica atenuada en el termopar.
- 20 5. El dispositivo de la reivindicación 4, en el que el procesador está programado para calcular la concentración del analito en el líquido basado, al menos en parte, en una diferencia de amplitud entre la onda térmica en el elemento de transferencia de calor y la onda térmica atenuada en el termopar.
- 25 6. El dispositivo de la reivindicación 1, que comprende además un material (212) base sobre el termopar, en el que el polímero de ensayo se asegura a una superficie del material base.
7. El dispositivo de la reivindicación 1, en el que el polímero de ensayo comprende un polímero impreso molecularmente, o el polímero de ensayo comprende un material seleccionado del grupo que consiste en ADN, ARN, proteínas y porciones y análogos de los mismos.
- 30 8. El dispositivo de la reivindicación 1, en el que el polímero de ensayo está formulado para unirse al analito en un líquido cuando el líquido está en contacto con el polímero de ensayo.
9. El dispositivo de la reivindicación 1, en el que el polímero de ensayo está sobre, y en contacto con, el termopar o en el que el polímero de ensayo rodea el termopar.
- 35 10. Un procedimiento de formación de un sensor (200), comprendiendo el procedimiento:
recubrir un termopar (210) con un polímero (212) de ensayo, en el que el polímero de ensayo está formulado para unirse a un analito (132) de modo que una propiedad de transferencia de calor del polímero de ensayo varía en respuesta a una cantidad del analito unido al mismo.
- 40 11. El procedimiento de la reivindicación 10, en el que el recubrimiento del termopar con el polímero de ensayo comprende proporcionar un polímero impreso molecularmente sobre y en contacto con el termopar o en el que recubrir el termopar con el polímero de ensayo comprende proporcionar un polímero impreso molecularmente que rodea el termopar.
- 45 12. El procedimiento de la reivindicación 10, en el que recubrir el termopar con el polímero de ensayo comprende recubrir una superficie del termopar con un material (212) base y en el que recubrir el termopar con el polímero de ensayo comprende asegurar el polímero de ensayo al material base.
- 50 13. El procedimiento de la reivindicación 12, que comprende además calentar el material base a una temperatura de transición vítrea del mismo antes de asegurar el polímero de ensayo al material base.
- 55 14. El procedimiento de la reivindicación 13, que comprende además enfriar el material base por debajo de la temperatura de transición vítrea para cristalizar el material base y retener al menos una porción del polímero de ensayo sobre el mismo.
- 60 15. El procedimiento de la reivindicación 14, que comprende además lavar el termopar para eliminar una porción no retenida del polímero de ensayo de una superficie del material base.
16. El procedimiento de la reivindicación 13, en el que asegurar el polímero de ensayo al material base comprende hacer rodar el termopar en un polvo que comprende el polímero de ensayo después de que el material base haya alcanzado la temperatura de transición vítrea.
17. Un procedimiento "in vitro" de detección de un analito, comprendiendo el procedimiento:

hacer pasar un líquido (124) que contiene un analito (132) adyacente, y en contacto con, un termopar (210) recubierto con un polímero (214) de ensayo, en el que una propiedad de transferencia de calor del polímero de ensayo se formula para variar en respuesta a una cantidad de un analito unido al mismo;

5 unir el analito al polímero de ensayo;

detectar una temperatura del termopar; y

calcular una concentración del analito en el líquido, en base al menos en parte en la propiedad de transferencia de calor del polímero de ensayo.

10 18. El procedimiento de la reivindicación 17, que comprende además proporcionar una onda térmica que comprende un cambio en la temperatura del líquido y en el que calcular una concentración del analito en el líquido comprende determinar una diferencia de amplitud entre la onda térmica en una interfaz entre el líquido y el polímero de ensayo y una onda térmica atenuada en el termopar.

15 19. El procedimiento de la reivindicación 17, en el que calcular una concentración del analito en el líquido comprende calcular una concentración de un analito biológico en el líquido.

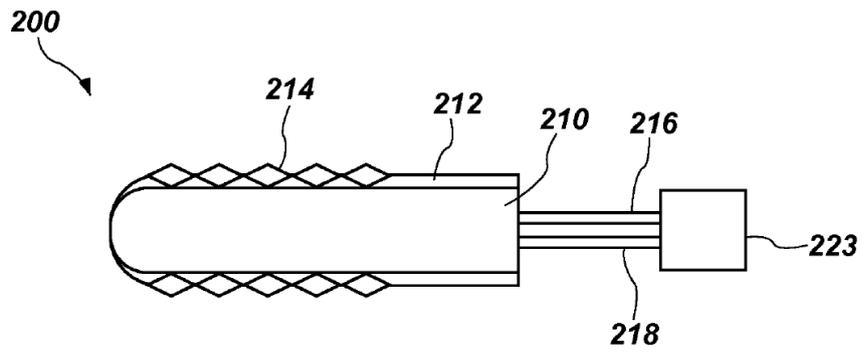


FIG. 1

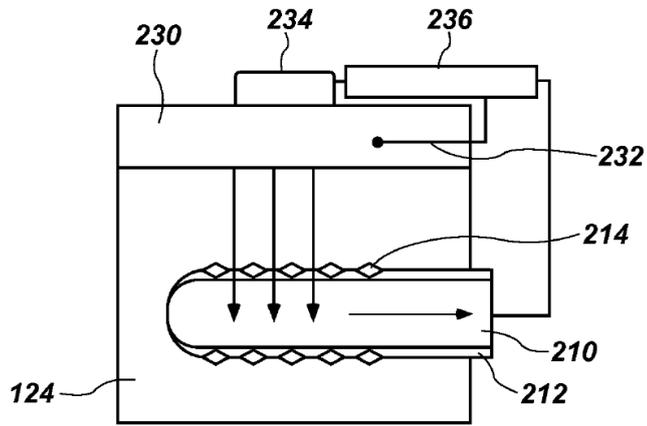


FIG. 2A

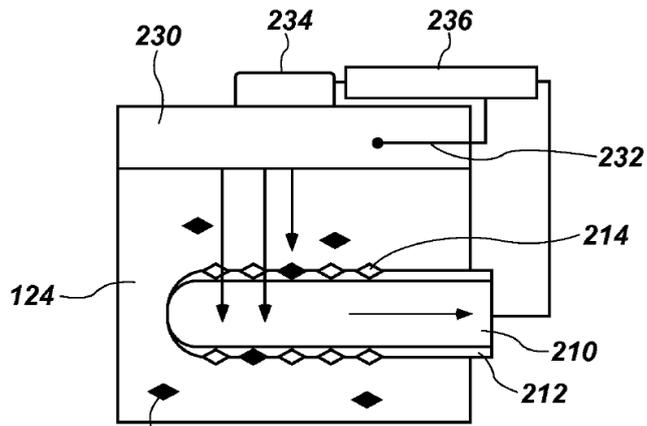


FIG. 2B

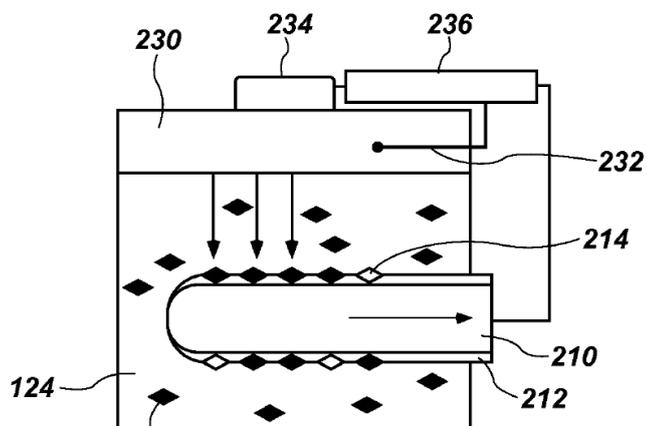


FIG. 2C

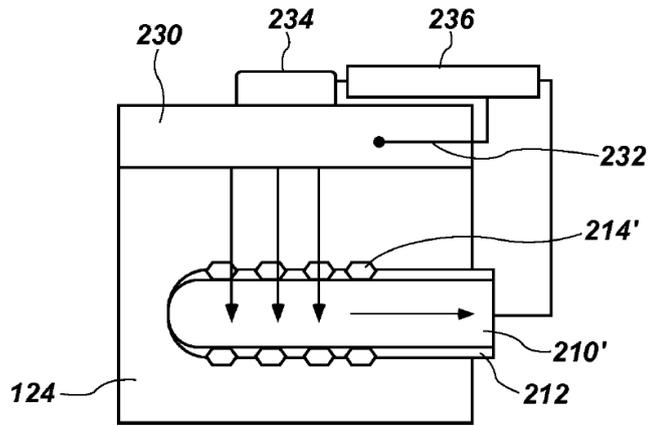


FIG. 3A

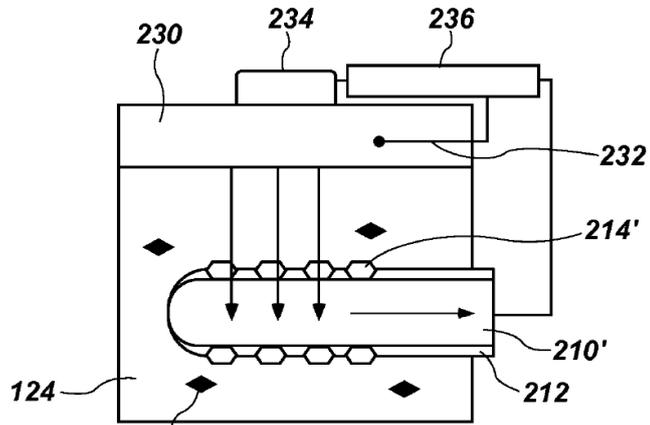


FIG. 3B

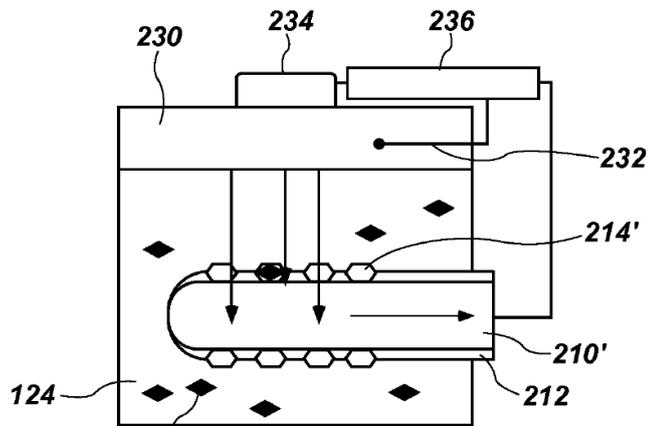


FIG. 3C

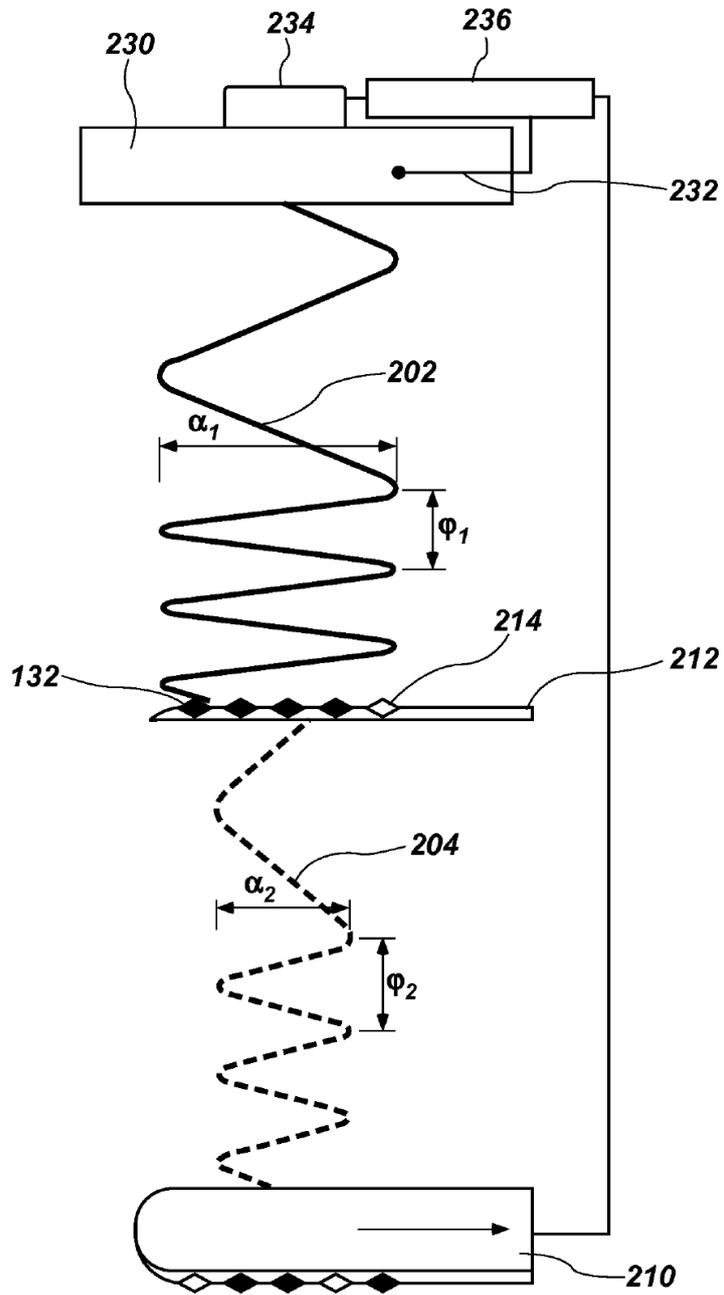


FIG. 4

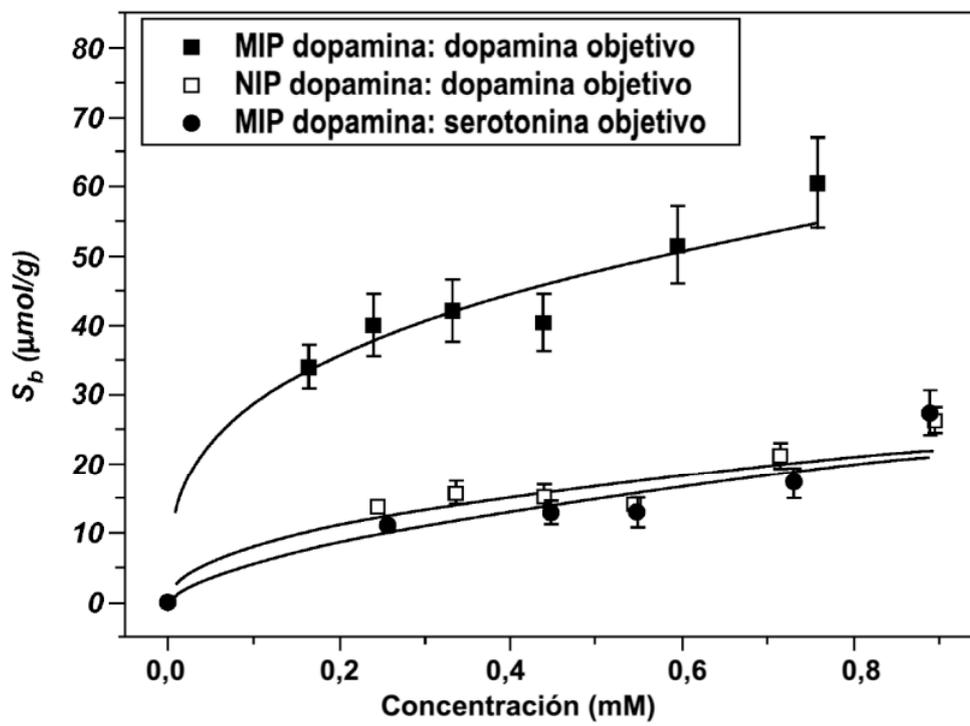


FIG. 5

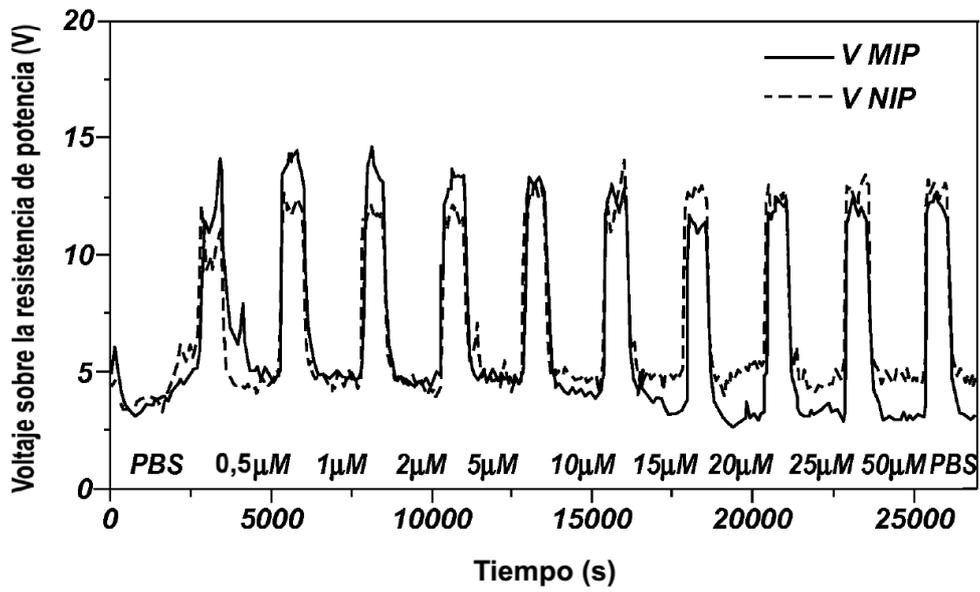


FIG. 6A

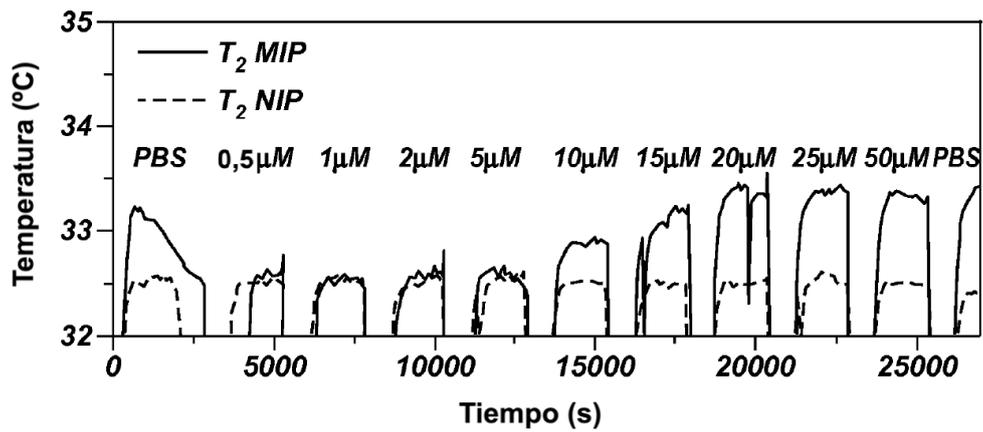


FIG. 6B

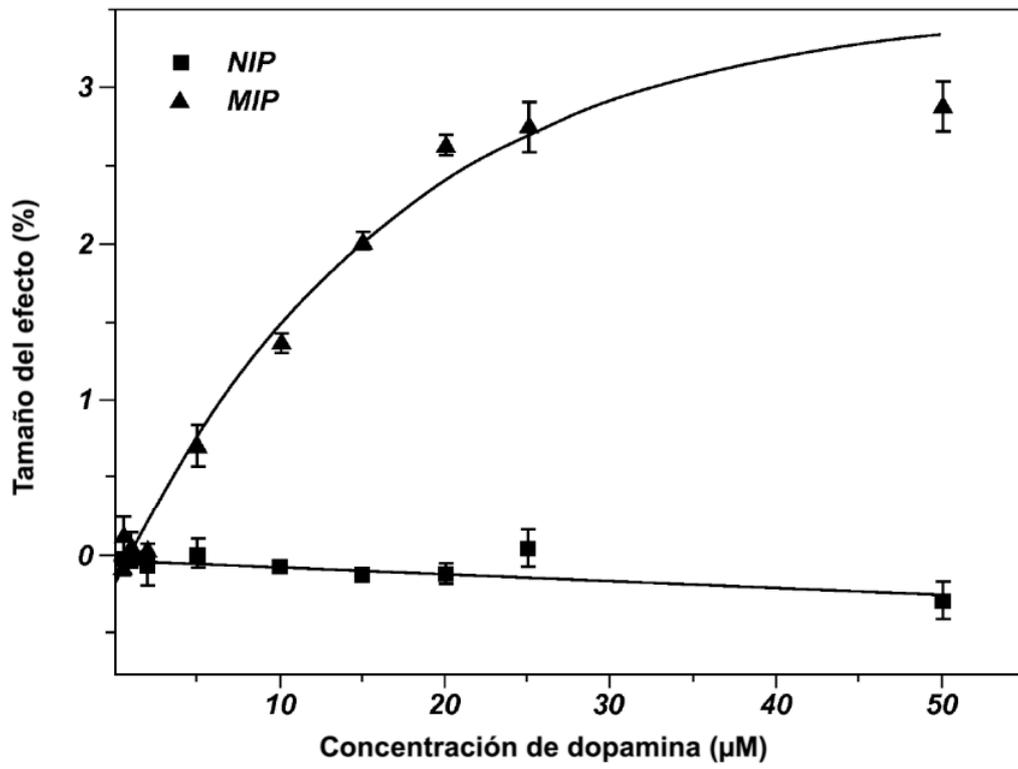


FIG. 7