

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 961 924**

51 Int. Cl.:

**G01R 33/30** (2006.01)

**G01N 24/08** (2006.01)

**G01N 24/10** (2006.01)

**G01R 33/32** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.09.2019 PCT/IB2019/057980**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.04.2020 WO20065478**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.09.2019 E 19795049 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.10.2023 EP 3857247**

54 Título: **Dispositivo de MR miniaturizado que comprende una microcámara de cultivo celular, y procedimiento para fabricarlo**

30 Prioridad:  
**24.09.2018 WO PCT/IB2018/057348**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**14.03.2024**

73 Titular/es:  
**ECOLE POLYTECHNIQUE FEDERALE DE LAUSANNE (EPFL) (100.0%)  
EPFL-TTO EPFL Innovation Park J  
1015 Lausanne, CH**

72 Inventor/es:  
**GRISI, MARCO;  
BOERO, GIOVANNI;  
BRUGGER, JUERGEN y  
CONLEY, GAURASUNDAR MARC**

74 Agente/Representante:  
**DURAN-CORRETJER, S.L.P**

ES 2 961 924 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Dispositivo de MR miniaturizado que comprende una microcámara de cultivo celular, y procedimiento para fabricarlo

5

**Sector técnico**

La presente invención pertenece al sector de la espectroscopía de resonancia magnética nuclear para el análisis de objetos microscópicos.

10

**Estado de la técnica anterior**

La resonancia magnética nuclear (NMR, nuclear magnetic resonance) y la resonancia de espín electrónico (ESR, Electron Spin Resonance) (a menudo indicadas, en general, como resonancia magnética, MR) son herramientas espectroscópicas ampliamente conocidas, utilizadas para el análisis químico de materia bruta intacta. El uso de estas herramientas espectroscópicas requiere un campo magnético externo estático  $B_0$ . En tal entorno, los electrones y los núcleos de la muestra pueden responder, de manera colectiva, a una excitación por medio de campos magnéticos que oscilan a la denominada frecuencia de Larmor  $\nu_0 = (\gamma/2\pi)B_0$ , donde  $\gamma$  es la relación giromagnética del núcleo o electrón objetivo. El valor efectivo de la relación giromagnética  $\gamma_{\text{eff}}$  depende de la especie nuclear (incluyendo isótopos) y del entorno químico en que está integrado el núcleo y/o el electrón. De hecho, para un entorno químico determinado, el apantallamiento del campo magnético externo es diferente, lo que tiene como resultado una frecuencia de Larmor ligeramente diferente. Este fenómeno de separación de las frecuencias de Larmor como consecuencia de la configuración química en la que están integrados los núcleos y/o electrones objetivo se conoce como desviación química. Los experimentos de NMR y ESR, que se pueden realizar en un esquema de excitación tanto continua como pulsada, permiten la inspección cuantitativa de las diferentes desviaciones químicas presentes en las muestras, teniendo, por lo tanto, como resultado la capacidad de obtener información química con una potencia de resolución potencialmente muy alta.

15

20

25

30

35

40

Una propiedad relevante de las técnicas de NMR (y, en alguna medida, de ESR) es la biocompatibilidad. Semejante propiedad única se debe al uso de frecuencias relativamente bajas tales como las necesarias para crear el fenómeno de resonancia. Gracias a las frecuencias relativamente bajas en juego, la excitación de la NMR se puede llevar a cabo, por ejemplo, sobre un organismo vivo intacto con una débil capacidad de interferir con moléculas y procesos biológicos, evitando, por lo tanto, cualquier alteración biológica de la muestra. Actualmente, la NMR se utiliza de forma rutinaria para inspeccionar, con propósitos de investigación y diagnóstico médico, animales y humanos vivos. La relación giromagnética de los protones tiene un valor de aproximadamente 42,5775 MHz/T. El uso de NMR para diagnóstico médico in vivo está aprobado actualmente, para humanos, hasta valores de campo de 7 T (correspondiente una frecuencia de Larmor 1 H de aproximadamente 300 MHz).

45

La instrumentación de MR actual disponible en el mercado está optimizada para la inspección de muestras sólidas, biológicas o líquidas hasta volúmenes de tan sólo 1  $\mu\text{L}$ . Tales instrumentos utilizan, como elementos de excitación y detección, inductores obtenidos con conductores metálicos. Dichos inductores se encuentran en muchas formas y tipos, cada uno adecuado para una muestra y/o aplicación específica (por ejemplo, bobinas de solenoide, de Helmholtz y de desviación).

50

Para aplicar las técnicas de MR al análisis de muestras microscópicas, anteriormente se ha propuesto e implementado la microfabricación de inductores. Se pueden encontrar ejemplos de dicha técnica anterior en las referencias [1-3] y se describen en la Patente US 2011/0091987. Con este enfoque, se conectan bobinas miniaturizadas (es decir, microbobinas) a componentes pasivos (habitualmente, condensadores) para obtener estructuras que resuenan a la frecuencia de Larmor. A continuación, dichos resonadores se interconectan, mediante cables, a electrónica estándar de transmisión-recepción (TX/RX). Con este enfoque, los cables que conectan la microbobina a los componentes externos y a la electrónica forman un inductor parásito que complica considerablemente la aplicación a MR de muestras pequeñas. Dichas estructuras parásitas, además de introducir pérdidas que reducen la relación señal/ruido efectiva, detectan señales de zonas diferentes de la ocupada por la muestra, introduciendo señales no deseadas cuando el experimentador introduce estructuras o componentes dirigidos a confinar la muestra. Dadas estas limitaciones, las microbobinas no proporcionan todavía soluciones versátiles a la comunidad de MR, a escalas por debajo de 1  $\mu\text{L}$ .

60

Otro enfoque propuesto recientemente es lo que se denomina en esta memoria un dispositivo de MR "ultracompacto", donde la electrónica necesaria de TX (transmisión) y/o RX (recepción) está situada muy cerca del elemento de excitación y/o detección (por ejemplo, una microbobina). Un ejemplo de dispositivo de MR ultracompacto es un microchip de semiconductor complementario de óxido metálico (CMOS, complementary-metal-oxide-semiconductor), donde la electrónica de TX/RX y la microbobina están integradas conjuntamente en el mismo sustrato. Se describen ejemplos de dichos dispositivos en [4-7]. Los

65

dispositivos de MR ultracompactos ofrecen la ventaja de volúmenes sensibles parásitos prácticamente ausentes, y permiten una implementación simplificada de MR del estado de la técnica a escalas de volumen comprendidas entre 5 pL y 1  $\mu$ L.

5 Un desafío que permanece insatisfecho es crear estrategias versátiles de manipulación de muestras, que permitan a los usuarios manipular y sostener fácilmente muestras, particularmente muestras sólidas que tienen una dimensión comprendida, habitualmente, entre 5 y 1000  $\mu$ m, tales como embriones (por ejemplo, de mamíferos, especies acuáticas, vegetales), células eucariotas o bacterias, cultivos celulares 3D, orgánulos de células madre, microtejidos de cualquier clase en estrecha proximidad con un elemento de detección (es decir, tan cerca como 1 nm), en volúmenes medios de líquido muy pequeños (es decir, menores de aproximadamente 1  $\mu$ L), y al mismo tiempo proporcionen un entorno controlado y biocompatible para el ente biológico analizado. Suponiendo el uso de un dispositivo de MR ultracompacto, existe la necesidad de una estructura integral dirigida a proporcionar condiciones biocompatibles y controlables, una estrategia versátil de manipulación de muestras, robustez frente al uso intensivo y exposición a líquidos de preferencia (por ejemplo, medios de cultivo para crecimiento y/o desarrollo de células). Tian Fook Kong *et al.*, en el documento "Adhesive-based liquid metal radiofrequency microcoil for magnetic resonance relaxometry measurement", Lab on a Chip, vol. 12, núm. 2, 1 de enero de 2012 (01/01/2012), páginas 287 a 294, comunican la fabricación y caracterización de una microbobina de metal líquido basada en adhesivo, para relaxometría de resonancia magnética (MRR, magnetic resonance relaxometry). Convencionalmente, se considera que las microbobinas se fabrican mediante diversas técnicas, tales como galvanoplastia, impresión de microcontactos y fresado de haz de iones focalizado. Estas técnicas requieren considerables esfuerzos de fabricación e incurrir en costes elevados. Muestran una técnica nueva para fabricar microbobinas de metal líquido multicapa tridimensionales junto con la red de microfluidos mediante laminación de láminas de adhesivo secas. Una de las características únicas de la técnica basada en adhesivo es que la cámara de muestra desacoplable se puede desechar después de cada experimento y la microbobina se puede reutilizar múltiples veces sin contaminación cruzada. La microbobina integrada tiene una baja resistencia de corriente continua (CC) de 0,3  $\Omega$ , y una inductancia relativamente alta de 67,5 nH, que conducen a un factor de alta calidad de aproximadamente 30 a 21,65 MHz. La microbobina se caracterizó por mediciones de MRR de protones de  $\sim$ 0,5 T. La duración, amplitud y frecuencia óptimas de los pulsos para el pulso de 90° fueron de 131  $\mu$ s, -30 dB (1,56 W) y 21,6553 MHz, respectivamente. Además, utilizaron la microbobina de metal líquido para llevar a cabo un estudio paramétrico sobre el índice de relajación transversal de glóbulos rojos humanos a diferentes niveles de hematocrito. El índice de relajación transversal aumenta de forma cuadrática con el nivel de hematocrito. Los resultados de la microbobina de metal líquido fueron verificados mediante mediciones con una bobina de solenoide convencional.

35 La Patente WO-A-2008091364 se refiere a detectar moléculas biológicas con ultrasensibilidad y facilidad. Las realizaciones están dirigidas especialmente a utilizar nanopartículas como etiquetas e identificar las etiquetas utilizando un dispositivo de resonancia magnética nuclear. Las sondas que contienen las nanopartículas pueden ser utilizadas en solución o unidas a un sustrato.

#### 40 **Características de la invención**

La presente invención trata y supera los inconvenientes mencionados anteriormente, proporcionando sondas de resonancia magnética del tipo ultracompacto (es decir, que tienen volúmenes sensibles localizados cerca de los elementos activos del sensor) contenidas en recintos y combinadas en microestructuras para implementar cámaras de cultivo biológico de resonancia magnética que se pueden adaptar para células y microorganismos vivos, según la reivindicación 1. Los usos de la invención pueden referirse a investigación bioquímica y/o diagnósticos clínicos que involucran muestras biológicas, tales como embriones (por ejemplo, de mamíferos, especies acuáticas, vegetales), células eucariotas o bacterias, cultivos celulares 3D, orgánulos de células madre, microtejidos de cualquier clase. Los usos de la invención también se pueden referir, asimismo, a sensores magnéticos.

Uno de los retos clave afrontados y resueltos por los inventores fue el de crear un sistema que comprenda un dispositivo de resonancia magnética miniaturizado, acoplado operativamente con una microcámara de biocultivo, que este optimizado para el análisis de muestras biológicas de menos de aproximadamente 1000  $\mu$ m de tamaño, es decir, un sistema que proporcione una excelente sensibilidad al espín (por ejemplo, una sensibilidad al espín de  $2 \cdot 10^{13}$  espines/Hz<sup>1/2</sup> en un volumen de 1 nL) para las muestras sometidas a estudio y una o varias zonas de detección menores de 1  $\mu$ L. Con este fin, se ha creado un procedimiento de fabricación que explota un proceso de deposición para proporcionar una capa conforme que 1) protege el dispositivo de detección ultracompacto (pasivación), 2) fija la microestructura al sustrato (unión) y 3) proporciona, posiblemente, una base biocompatible y variantes (por ejemplo, una superficie funcionalizada para fijación y/o captura de células).

65 Por consiguiente, en un primer aspecto se da a conocer, en el presente documento, un dispositivo de MR, según la reivindicación 1, que comprende un sistema de resonancia magnética miniaturizado y una cámara de cultivo celular para el análisis de muestras biológicas de menos de aproximadamente 1000  $\mu$ m de tamaño,

comprendiendo dicho dispositivo una capa de pasivación-uni3n que cubre, por lo menos parcialmente, dicho sistema. La invenci3n est3 relacionada, asimismo, con un procedimiento para fabricar dicho dispositivo, estando el procedimiento definido en la reivindicaci3n 10, comprendiendo el procedimiento una etapa de deposici3n de una capa de pasivaci3n-uni3n delgada sobre dicho sistema. En una realizaci3n preferente, dicha deposici3n se lleva a cabo por medio de un proceso de deposici3n seleccionado de entre deposici3n qu3mica de vapor y/o deposici3n f3sica de vapor.

La c3mara de cultivo celular tiene un volumen comprendido entre 0,1 nL y 1  $\mu$ L y est3 unida a dicho sistema.

10 La microc3mara de cultivo celular comprende un suelo fabricado de dicha capa.

Los anteriores y otros objetivos, caracter3sticas y ventajas de la presente invenci3n resultarn3 m3s evidentes a partir de un estudio de la siguiente descripci3n, haciendo referencia a las figuras adjuntas, que muestran algunos aspectos preferentes de dicha materia. Sin embargo, la presente invenci3n no se limita a las realizaciones descritas en lo que sigue y/o representadas en los dibujos; por el contrario, el alcance de la presente invenci3n est3 definido por las reivindicaciones adjuntas.

### Breve descripci3n de los dibujos

20 La figura 1 muestra un esquema de una realizaci3n de una configuraci3n completa de resonancia magn3tica donde unos microsistemas de NMR (denominados  $\mu$ MRBM) est3n enchufados en un recept3culo y son introducidos en un im3n para su utilizaci3n;

la figura 2a muestra esquemas, en vista superior, de dos realizaciones de geometr3as de sensor ultracompacto, que comprenden plaquitas, elemento activo, elemento de detecci3n y/o de excitaci3n. La figura 2b muestra representaciones 3D de dichos sensores ultracompactos montados en una placa de circuito impreso;

la figura 3a y la figura 3b muestran secciones transversales esquem3ticas (vista lateral) de realizaciones de microc3maras de biocultivo de resonancia magn3tica, montadas en una placa de circuito impreso. En la figura 3a, el  $\mu$ MRBM no tiene una tapa superior para el recinto y la microestructura de alojamiento, mientras que en la figura 3b existen dichas tapas. La figura 3c muestra una representaci3n 3D del sensor ultracompacto, combinado con la microestructura de alojamiento, montado en una placa de circuito impreso;

la figura 4 muestra representaciones 3D de ejemplos b3sicos de "bobinas auxiliares externas" que complementan un sensor ultracompacto. En la figura 4a se representa una bobina de gradiente, en la figura 4b una bobina plana est3 situada en estrecha proximidad con el elemento de detecci3n. Dichas bobinas se pueden utilizar para implementar tanto gradientes pulsados como pulsos de excitaci3n;

la figura 5 muestra dos ejemplos b3sicos de la bobina auxiliar interna. En la figura 5a se utilizan uni3n por cable y metales en chip para fabricar una parte de una bobina. La figura 5b muestra el caso de una bobina auxiliar acoplada fuertemente al elemento de detecci3n y realizada 3ntegramente con las capas met3licas disponibles en el microchip que aloja el sensor ultracompacto;

la figura 6 muestra dos ejemplos de uno o varios sensores ultracompactos organizados y una o varias microestructuras de alojamiento, que se pueden utilizar como base para fabricar uno o varios  $\mu$ MRBM organizados. La figura 6a muestra un conjunto donde est3n colocados sensores ultracompactos individuales en la misma placa de circuito impreso, interconectados, cada uno, con una microestructura de alojamiento. La figura 6b muestra un conjunto donde un sustrato de microchip individual contiene m3ltiples sensores ultracompactos, y una sola microestructura de alojamiento dirige individualmente cada zona de excitaci3n y/o detecci3n.

### Descripci3n detallada de la invenci3n

50 La materia descrita en el presente documento se aclarar3 en lo que sigue por medio de la descripci3n siguiente de los aspectos que se representan en los dibujos. Sin embargo, debe entenderse que la materia descrita en esta memoria descriptiva no se limita a los aspectos descritos en lo que sigue y representados en los dibujos; por el contrario, el alcance de la materia descrita en el presente documento est3 definido por las reivindicaciones. Adem3s, debe entenderse que las condiciones o par3metros espec3ficos descritos y/o mostrados en lo que sigue no limitan la materia descrita en el presente documento, y que la terminolog3a utilizada en el presente documento tiene el prop3sito de describir aspectos particulares solamente a modo de ejemplo y no pretende ser limitativa.

60 Salvo que se defina lo contrario, los t3rminos t3cnicos y cient3ficos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende normalmente un experto en la materia a la que pertenece esta invenci3n. Adem3s, salvo que el contexto requiera otra cosa, los t3rminos singulares incluir3n plurales y los t3rminos plurales incluir3n el singular. Los procedimientos y las t3cnicas de la presente invenci3n se llevan a cabo, en general, seg3n procedimientos convencionales bien conocidos en la t3cnica y que se describen en diversas referencias generales y m3s espec3ficas que son citadas y explicadas a lo largo de la presente memoria descriptiva, salvo que se indique lo contrario. Adem3s, para mayor claridad, se entiende que la utilizaci3n del

término “aproximadamente” en el presente documento abarca una variación de +/- el 10 % de un determinado valor.

La siguiente descripción se comprenderá mejor mediante las definiciones siguientes.

5 Tal como se utilizan en lo que sigue y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares “un”, “una”, “el” y “la” incluyen referentes plurales salvo que el contexto indique claramente lo contrario. Así, el uso de “o” significa “y/o” salvo que se indique lo contrario. De manera similar, “comprender”, “comprende”, “que comprende”, “incluir”, “incluye” y “que incluye” son intercambiables y no pretenden ser limitativos. Debe entenderse, además, que cuando, para la descripción de diversas realizaciones, se hace uso de la expresión “comprende”, los expertos en la materia entenderán que, en algunos casos específicos, una realización se puede describir alternativamente utilizando la expresión “consiste esencialmente en” o “consiste en”.

15 Por “película o capa delgada” se entiende, en el presente documento, un elemento sólido que tiene un grosor mucho menor que las otras dimensiones, por ejemplo, por lo menos, un quinto comparado con las otras dimensiones. Este es una capa sólida que tiene una superficie superior y una superficie inferior, con cualquier forma adecuada, y un grosor del orden de nanómetros o incluso de micrómetros, en función de las necesidades y las circunstancias, por ejemplo, de las etapas de fabricación utilizadas para producirlo. En realizaciones preferentes, la película según la invención tiene un grosor comprendido entre aproximadamente 20 1 nm y 1000 micras, preferentemente entre aproximadamente 1 nm y 600 micras, entre aproximadamente 1 nm y 300 micras, entre aproximadamente 1 nm y 100 micras, entre aproximadamente 1 nm y 50 micras, entre aproximadamente 100 nm y 100 micras, entre aproximadamente 1 micra y 500 micras, entre aproximadamente 1 micra y 300 micras, entre aproximadamente 1 micra y 100 micras, entre aproximadamente 10 micras y 100 micras o entre aproximadamente 1 micra y 50 micras.

25 El término “pasivación” indica el comportamiento de la película o capa delgada, según la presente invención, actuando dicha película o capa como un material de pantalla aislante que impide conexiones físicas, químicas y/o eléctricas entre dos o más elementos del dispositivo tales como, por ejemplo, componentes eléctricos y medios líquidos, evitando de ese modo, por ejemplo, cortocircuitos, así como, por ejemplo, corrosión debida a oxidación de componentes metálicos.

35 Se entiende que “deposición” significa, en el presente documento, la acción de aplicar una película delgada a una superficie, lo que contempla cualquier técnica para depositar una película delgada de material sobre un sustrato o sobre capas depositadas previamente. “Delgada” es un término relativo, pero la mayor parte de las técnicas de deposición controlan los grosores de las capas dentro de unas pocas decenas de nanómetros. Un procedimiento de deposición puede incluir uno de deposición química de vapor, deposición física de vapor, centrifugado y pulverización. En una realización según la presente invención, el procedimiento de deposición comprende un proceso de deposición química de vapor. En una realización alternativa o adicional, el procedimiento de deposición comprende un proceso de deposición física de vapor.

40 Un proceso de “deposición química de vapor”, o “CVD” (chemical vapor deposition), es un procedimiento de deposición utilizado para fabricar materiales sólidos de alta calidad y alto rendimiento, habitualmente en vacío. En una CVD habitual, un sustrato u oblea se expone a uno o varios precursores volátiles, que reaccionan con, y/o se descomponen sobre la superficie del sustrato para producir el depósito deseado. La CVD se utiliza normalmente para depositar películas conformes y aumentar superficies de sustratos, de maneras de las que no son capaces las técnicas más tradicionales de modificación de superficies. La CVD es extremadamente útil en la denominada deposición de capas atómicas, depositando capas de material extremadamente delgadas. En el marco de la presente invención, se entiende que deposición química de vapor incluye CVD a presión atmosférica (APCVD), CVD a baja presión (LPCVD) y CVD en ultravacío (UHVCVD). Además, en el marco de la presente invención, se entiende que deposición química de vapor incluye procedimientos de procesamiento de plasma, tales como CVD asistida por plasma con microondas (MPCVD), CVD reforzada con plasma (PECVD), CVD reforzada con plasma remoto (RPECVD), CVD de capas atómicas (ALCVD), deposición química de vapor con combustión (CCVD), CVD con filamentos calientes (HFCVD), deposición híbrida física-química de vapor (HPCVD), CVD térmica rápida (RTCVD), epitaxia en fase de vapor (VPE), CVD fotoiniciada (PICVD) y deposición química de vapor con láser (LCVD).

55 Un proceso de “deposición física de vapor”, o “PVD” (physical vapor deposition), describe, en general, diversos procedimientos de deposición en vacío que pueden ser utilizados para fabricar películas y revestimientos delgados. La PVD está caracterizada por un proceso en el que el material pasa de una fase condensada a una fase de vapor y, a continuación, vuelve a una fase condensada de película delgada, para depositar capas de material átomo a átomo o molécula a molécula sobre un sustrato sólido. En el marco de la presente invención, se entiende que deposición física de vapor incluye deposición mediante arco catódico, deposición física de vapor por haz de electrones, evaporación o deposición evaporativa, deposición por pulverización catódica, procedimiento de sándwich por sublimación, deposición asistida por haz de iones y deposición híbrida física-química de vapor (HPCVD).

En el presente documento, se entiende que “elemento activo” significa un conjunto de herramientas que se utilizan para excitar y/o detectar la resonancia, que pueden consistir en electrónica y/o elementos ópticos (tales como láseres, fuentes de luz en chip, estructuras de plasmón o microlentes).

5 En el presente documento, se entiende que “elemento de detección” significa el elemento del sistema de la presente invención que se utiliza como recogida de señales antes de la necesaria operación de amplificación (y, finalmente, de la conversión reductora en frecuencia). En algunos casos, tal como el caso en que este elemento está realizado por un inductor, el elemento de detección se puede utilizar para excitación y  
10 detección de NMR, solamente con fines de excitación o solamente con fines de detección. Por esta razón, en el presente documento el elemento de detección se denomina, asimismo, “elemento de detección y/o excitación”. El “elemento de detección” de un dispositivo ultracompacto define la zona en la que se realiza la detección, sus propiedades geométricas, los límites al rendimiento en términos de potencia de detección, la metodología utilizada para llevar a cabo la detección.

15 Hasta ahora existen dos fenómenos físicos que pueden ser explotados para conseguir dichos elementos de detección, a saber, fenómenos inductivos y optomagnéticos. En los enfoques de detección inductiva, el sensor consiste en uno o varios inductores fabricados con devanados metálicos. En esta realización, la dinámica de la magnetización de la muestra habitual de la resonancia magnética es transformada, por la ley de Faraday, en señales de tensión. En funcionamiento, es necesario asentar la muestra dentro de la zona del  
20 espacio sobre la que el inductor es capaz de generar campos magnéticos cuando circula alguna corriente a través del mismo. Una corriente que fluye a través de una bobina induce un flujo magnético que, si es interceptado por una segunda bobina adyacente, puede inducir una tensión. En dicho escenario, se dice que las dos bobinas están acopladas. El “coeficiente de acoplamiento k” es un número adimensional, entre 0 y 1, que indica la fracción de flujo magnético producido por una bobina e interceptado por una según la bobina.  
25 Este número depende fuertemente de la distancia y orientación relativas entre las dos bobinas. Denominando  $L_1$  a la autoinductancia de una bobina,  $L_2$  a la autoinductancia de la otra bobina y  $N$  a la inducción mutua, el coeficiente de acoplamiento se expresa como  $k = N/(L_1 L_2)^{1/2}$ .

30 Los enfoques de detección inductiva pueden explotar, asimismo, combinaciones de una o varias bobinas y/o estructuras metálicas simples que se acoplan inductivamente, para simplificar la recogida y el tratamiento de señales y/o para mejorar las capacidades de detección del elemento de detección. Se han documentado ejemplos de dicho uso de acoplamiento inductivo para sondas NMR de rotación en ángulo mágico, o para microsondas para detección a alta presión en celdas de yunque de diamante. Un ejemplo de elementos de detección que explotan beneficiosamente el acoplamiento es una lente de Lentz acoplada inductivamente a  
35 una bobina mayor. En realizaciones de la invención, el elemento de detección del sensor ultracompacto puede estar fabricado, asimismo, de una combinación apilada de una o varias microbobinas y/o estructuras metálicas acopladas, tales como lentes de Lentz o similares. Esta combinación apilada se puede fabricar dentro de un único sustrato (es decir, sustrato de microchip) o combinando capas separadas que contienen, cada una, por lo menos, un elemento de la pila.

40 En el presente documento, por “volumen de detección o “zona de detección” se entiende la zona del espacio relacionada con la excitación y/o detección de la resonancia magnética. Dicha zona se puede definir con respecto a la sensibilidad al espín. En general, es posible expresar las capacidades de detección de un sensor de resonancia magnética como la cantidad de espines y, por lo tanto, de núcleos y/o electrones objetivo en la muestra, que permite una relación señal/ruido de 3 sobre un ancho de banda de detección de 1  
45 Hz. Dicho valor, también denominado sensibilidad al espín ( $\xi$ ), varía en el espacio y es el resultado de las propiedades geométricas del elemento de detección y del mecanismo de detección subyacente. Dados un elemento de detección y un sistema cartesiano de coordenadas (x,y,z) existe, por lo tanto, un mapa asociado de sensibilidad al espín  $\xi(x,y,z)$ . La dimensión y la geometría de la zona de detección se puede definir en relación con dicho campo de valores escalares. Usando una malla del espacio en la que todos los elementos tengan volúmenes idénticos  $dV$  comprendidos entre 1 zL y 10 zL, a cada elemento de la malla se puede  
50 asociar la contribución correspondiente de la señal total  $\xi(x_i,y_i,z_i)dV$ . Siendo  $\xi_{max}$  el máximo de esta colección de valores escalares, la zona de detección se definirá como la unión de volúmenes  $dV$  cuya contribución de señal es, individualmente, mayor de  $\xi_{max}/3$ . Las realizaciones de la invención se refieren a dispositivos que tienen zonas de detección individuales menores de 1  $\mu$ L.  
55

Una “microbobina” es una bobina, o uno o varios bucles conectados, que tiene, por lo menos, una dimensión en la escala de micrómetros ( $\mu$ m), o menor de  $10^{-3}$  metros (mm). Una microbobina comprende normalmente un material delgado enrollado o recogido alrededor de un centro o un centro imaginario, en formas espiral,  
60 helicoidal u otras. Una microbobina está definida por el propio material, la forma de los devanados y la separación entre cada devanado. Las microbobinas de tipo solenoide son múltiples bucles de cable en espiral, que pueden o no estar enrollados en torno a un núcleo metálico. Una microbobina de tipo solenoide produce un campo magnético cuando se hace pasar una corriente eléctrica a su través, y puede crear campos magnéticos controlados. Una microbobina de tipo solenoide puede producir un campo magnético  
65 uniforme en un volumen predeterminado de espacio. Una microbobina “plana” es una microbobina con sus devanados mantenidos sustancialmente en un plano real o imaginario. Dichas microbobinas, cuyos diámetros

interiores abarcan habitualmente, en tamaño, de 0,1 a 0,5 mm (dependiendo del tamaño medio del volumen de la muestra), son capaces de obtener espectros NMR de alta calidad, con pequeños volúmenes de muestra (nL a  $\mu$ L).

5 Un conjunto de microbobinas es una colección de microbobinas fabricadas sobre un sustrato, tal como silicio, vidrio o un sustrato polimérico. Cada una de las microbobinas puede estar asociada con, o corresponder a un espacio de muestra a través del cual la microbobina puede generar un campo magnético oscilatorio, como parte de un análisis de NMR o ESR. El espacio de la muestra puede ser un espacio para sostener una muestra.

10 En el presente documento, por "microestructura de alojamiento" se entiende una estructura que, según la invención, está situada sobre y/o en el entorno circundante de un sensor de resonancia magnética ultracompacto. La microestructura de alojamiento está concebida para alojar una muestra, sólido y/o líquido, manteniéndola dentro de un volumen de detección. En el presente documento, por "recinto" se entiende un recinto que contiene un líquido de preferencia que está en contacto con la muestra y una microestructura de alojamiento. Como será evidente, el recinto y la microestructura de alojamiento son objetos que tienen dimensiones en dos escalas longitudinales diferentes, la primera se puede denominar "macroscópica" y la segunda "microscópica".

15 20 Las realizaciones de la invención incluyen microestructuras de alojamiento que están diseñadas para muestras de "alojar solamente". Dichas realizaciones consisten en micropozos de cualquier forma, donde las muestras están simplemente contenidas dentro de la zona de detección. En estas realizaciones, el usuario coloca la muestra en la microcámara de cultivo (manualmente o por medio de sistemas automatizados) y puede recuperarla una vez han concluido el experimento o los experimentos.

25 Un "microcanal" es un canal, ranura o conducto que tiene, por lo menos, una dimensión en la escala de micrómetros ( $\mu$ m), o menor de  $10^{-3}$  metros (mm). Aunque los microcanales son, habitualmente, rectos a lo largo de su longitud, pueden contener ángulos y curvas de diferentes grados a lo largo de su longitud. Aunque los microcanales tienen, habitualmente, secciones transversales rectangulares, pueden tener, asimismo, otras formas de sección transversal, tal como un círculo. Los microcanales son normalmente adecuados para comunicaciones fluidicas, tal como transporte a través de un líquido biológico. A menudo, los microcanales son parte de un dispositivo integrado, tal como un dispositivo de microfluidos o un circuito integrado, de manera que el líquido que fluye a través de los microcanales está en un patrón controlado y puede ser analizado como se desee.

30 35 Un "dispositivo de microfluidos" es un dispositivo que tiene uno o varios microcanales. Un dispositivo de microfluidos puede ser parte de un dispositivo integrado, tal como un equipo integrado de separación o detección o un circuito integrado. Los fluidos utilizados en dispositivos de microfluidos incluyen muestras de sangre entera, suspensiones de células bacterianas, soluciones de proteínas o anticuerpos y diversos tampones y suero.

40 Los dispositivos de microfluidos se pueden utilizar para obtener muchas mediciones interesantes, que incluyen propiedades mecánicas de fluidos, coeficientes de difusión celular y molecular, viscosidad del fluido, valores de pH, coeficientes de unión química y biológica, y cinética de reacción enzimática. Otras aplicaciones para dispositivos de microfluidos incluyen detección y separación de células y moléculas, electroforesis capilar, isoelectroenfoque, inmunoensayos, citometría de flujo, inyección de muestras de proteínas para análisis mediante espectrometría de masas, análisis de ADN, manipulación celular y separación celular.

45 50 Tal como se utilizan en el presente documento, "magnético", "efecto magnético" y "magnetismo" se refieren a fenómenos mediante los que un material ejerce una fuerza atractiva o repulsiva sobre otro material. Aunque teóricamente todos los materiales están influidos en alguna medida por el efecto magnético, los expertos en la materia entienden que el efecto magnético o magnetismo se reconoce solamente por su detectabilidad en circunstancias específicas.

55 60 Tal como se utiliza en el presente documento, un "imán permanente" es un material, o cualquier objeto sustancialmente compuesto de dicho material, que tenga un campo magnético que no dependa de influencias externas (por ejemplo, corrientes eléctricas). Debido a sus espines electrónicos desapareados, algunos metales son magnéticos cuando se encuentran en sus estados naturales, como los minerales. Estos incluyen mineral de hierro (magnetita o piedra de imán), cobalto y níquel. Un "material paramagnético" se refiere a un material que atrae y repele como los imanes normales cuando es sometido a un campo magnético. Los materiales paramagnéticos incluyen aluminio, bario, platino y magnesio. Un "material ferromagnético" es un material que puede exhibir una magnetización espontánea. El ferromagnetismo es una de las formas de magnetismo más fuertes y la base de todos los imanes permanentes. Los materiales ferromagnéticos incluyen hierro, níquel y cobalto. Un "material superparamagnético" es un material magnético que presenta un

comportamiento similar al de un material paramagnético a temperaturas por debajo de la temperatura de Curie o de Neel.

5 “Soporte sólido” y “soporte” se refieren a un material o grupo de materiales que tiene una o varias superficies rígidas o semirrígidas. En algunos aspectos, por lo menos una superficie del soporte sólido será sustancialmente plana, aunque en algunos aspectos puede ser deseable separar físicamente zonas de síntesis para diferentes moléculas con, por ejemplo, pocillos, zonas elevadas, patillas, muescas grabadas, o similares. En ciertos aspectos, el soporte o los soportes sólidos adoptarán la forma de gotas, resinas, geles, microsferas u otras configuraciones geométricas.

10 El término “chip”, “microchip” o “placa de circuito impreso” se refiere a un sustrato o dispositivo pequeño que comprende componentes para desempeñar ciertas funciones. Un chip incluye sustratos fabricados de silicio, vidrio, metal, polímero, o combinaciones, y que puede funcionar, por ejemplo, como un microconjunto, un macroconjunto y/o un circuito integrado. Un chip puede ser un dispositivo microelectrónico fabricado de material semiconductor y que tiene uno o varios circuitos integrados o uno o varios dispositivos.

15 Un “chip” o “microchip” es habitualmente una sección de una oblea y se fabrica rebanando la oblea. Un “chip” o “microchip” puede comprender muchos transistores en miniatura y otros componentes electrónicos sobre un único rectángulo delgado de silicio, zafiro, germanio, nitruro de silicio, silicio-germanio o cualquier otro material semiconductor. En las realizaciones de la invención, tal como se explica en el presente documento, en un microchip pueden, asimismo, estar integrados microcanales, dispositivos de microfluidos y sensores de unión de túnel magnético.

20 Tal como se utiliza en el presente documento, “dimensión máxima” se refiere a aquellos parámetros o mediciones necesarios para definir la forma y/o el tamaño, tales como la altura, la anchura y la longitud de un objeto. Tal como se utiliza en el presente documento, la dimensión máxima de un objeto bidimensional, tal como un rectángulo, un polígono o un círculo, es la distancia más larga en línea recta entre cualesquiera dos puntos del objeto. Por lo tanto, la dimensión máxima de un círculo es su diámetro; la de un rectángulo su diagonal y la de un polígono su diagonal más larga. La dimensión máxima de un objeto tridimensional es la distancia más larga en línea recta entre cualesquiera dos puntos en el objeto.

25 Un “microprocesador” es un procesador en un chip de circuito integrado (IC, integrated circuit). El procesador puede ser uno o varios procesadores en uno o más chips de IC. El chip es, habitualmente, un chip de silicio con miles de componentes electrónicos que sirven como una unidad central de procesamiento (CPU, central processing unit) de un ordenador o un dispositivo informático.

30 El procedimiento para fabricar un dispositivo, según se define en la reivindicación 10, comprende una etapa de depositar una película o capa delgada de pasivación sobre el sistema de resonancia magnética miniaturizado. En realizaciones preferentes según la invención, dicha deposición se realiza mediante un proceso de deposición seleccionado entre deposición química de vapor y deposición física de vapor.

35 El dispositivo de la invención es un dispositivo NMR o ESR miniaturizado integrado en chip, que comprende un sustrato que tiene una microcámara de cultivo celular para contener una muestra conectada operativamente con un elemento de detección y/o excitación que puede generar un campo magnético de excitación a través de, por lo menos, una parte del espacio. Para mayor brevedad, en lo que sigue el dispositivo se denomina, asimismo, “microcámara de biocultivo de resonancia magnética”, abreviado por el acrónimo  $\mu$ MRBM. Materiales específicos útiles como sustrato incluyen, de forma no limitativa, silicio, poliestireno, polidimetilsiloxano (PDMS), vidrio, vidrio funcionalizado químicamente, vidrio recubierto con polímero, vidrio recubierto con nitrocelulosa, vidrio no recubierto, cuarzo, plásticos, metales y cerámicas.

40 El procedimiento de la invención ha sido desarrollado para obtener un  $\mu$ MRBM que pueda poner muestras sólidas que tienen una dimensión comprendida, habitualmente, entre 5 y 1000  $\mu$ m, ya sea individualmente o incluidas en volúmenes muy pequeños de un medio líquido (es decir, menores de aproximadamente 1  $\mu$ L), en estrecha proximidad con un elemento de detección (es decir, tan cerca como a 1 nm), proporcionando de ese modo una excelente sensibilidad al espín para las muestras estudiadas y una o varias zonas de detección menores de 1  $\mu$ L.

45 Al implementar una capa de deposición como una etapa de fabricación para el dispositivo, el dispositivo obtenido resulta pasivado, unido de manera ajustada en todos sus componentes y, posiblemente, funcionalizado o en todo caso con la capacidad de ser funcionalizado en función de las necesidades y circunstancias. En realizaciones preferentes del procedimiento de la invención, la película o capa delgada de pasivación se deposita, por lo menos, en dicho elemento de detección.

50 El dispositivo según la invención comprende un elemento activo configurado para transmitir una señal de excitación al, por lo menos, un elemento de detección y/o recibir una señal de entrada desde dicho, por lo

menos, un elemento de detección. En una realización, la película o capa delgada de pasivación es depositada en el elemento activo.

5 El procedimiento de la invención comprende, además, una etapa de unir una microestructura de alojamiento, definiendo un volumen de una microcámara de cultivo celular, a dicho sistema de resonancia magnética miniaturizado, creando de ese modo una microcámara de cultivo celular. Preferentemente, la microcámara de cultivo celular está situada en el interior de la zona de detección y/o excitación.

10 Una realización particular del procedimiento de la invención contempla, por lo menos, las siguientes etapas reivindicadas en la reivindicación 10, en particular:

a) disponer un sistema de resonancia magnética miniaturizado;

b) disponer una microestructura de alojamiento;

15 c) poner en contacto dicho sistema de resonancia magnética miniaturizado con dicha microestructura de alojamiento, definiendo dicha microestructura de alojamiento un volumen de una microcámara de cultivo celular; y

20 d) unir dicho sistema de resonancia magnética miniaturizado a dicha microestructura de alojamiento por medio de un proceso de deposición, en condiciones que permiten obtener una película o capa delgada de pasivación, creando de ese modo una microcámara de cultivo celular que tiene un suelo fabricado de dicha película o capa delgada de pasivación.

El procedimiento comprende, además, una etapa de poner en contacto dicho sistema de resonancia magnética miniaturizado con un elemento de recinto que define un volumen cerrado.

25 Tal como será evidente para un experto en la materia, otro aspecto de la presente invención se refiere a un dispositivo obtenible por el procedimiento de la presente invención. El dispositivo se define en la reivindicación 1. En particular, dicho dispositivo comprende una microcámara de cultivo celular que tiene un volumen comprendido entre 0,1 nL y 1  $\mu$ L, unida a un sistema de resonancia magnética miniaturizado, comprendiendo dicha microcámara de cultivo celular un suelo fabricado de una película o capa delgada de pasivación depositada.

30

El sistema de resonancia magnética miniaturizado comprende

a) por lo menos, un elemento de detección que proporciona una zona de detección y/o excitación, y

35 b) un elemento activo configurado para transmitir una señal de excitación al, por lo menos, un elemento de detección y recibir una señal de entrada de dicho, por lo menos, un elemento de detección, en el que la microcámara de cultivo celular está situada en el interior de la zona de detección y/o excitación.

40 El dispositivo de la invención es un sensor versátil y fácil de utilizar, concebido para el estudio y análisis de muestras muy pequeñas mediante técnicas de resonancia magnética nuclear (NMR) y resonancia de espín electrónico (ESR). Además de habilitar simplemente dichas herramientas espectroscópicas a escalas de volumen inferiores a 1  $\mu$ L, la invención se refiere a microconfiguraciones integrales que permiten mediciones sobre material biológico en condiciones biocompatibles. Dicha instrumentación permite al usuario medir parámetros bioquímicos adecuados de una muestra, de manera sistemática y en entornos líquidos de preferencia, en condiciones de temperatura estabilizadas, y en un estado de perfusión controlado externamente. El dispositivo se puede utilizar, por ejemplo, para inspeccionar el contenido químico de muestras biológicas con el objetivo de llevar a cabo un análisis o un diagnóstico.

45

50

El, por lo menos, un elemento de detección y el elemento activo están dispuestos en una configuración ultracompacta. Un dispositivo de resonancia magnética "ultracompacto" comprende los dos elementos mencionados anteriormente, dispuestos adyacentes en un plano o apilados verticalmente. En su realización, un sensor de resonancia magnética ultracompacto contiene los dos elementos en una superficie muy pequeña, lo suficientemente cerca entre sí para que las capacidades de detección estén definidas solamente por el elemento de detección, y no por las interconexiones entre los dos elementos. En dicha realización, el sensor funciona localmente, reduciendo de ese modo las señales no deseadas procedentes de materiales que están situados alrededor, por debajo y por encima del dispositivo ultracompacto.

55

60

En otra realización, según la invención, el dispositivo comprende un imán permanente o un electroimán que puede generar un campo magnético estático a través de, por lo menos, una parte del espacio. Un imán permanente o un electroimán genera un campo magnético estático a través de, por lo menos, una parte del espacio para la contención de una muestra. Materiales adecuados para utilizar como el imán permanente o el electroimán incluyen materiales magnéticos permanentes, materiales ferromagnéticos, materiales paramagnéticos y materiales no magnéticos. Cuando se utiliza un material ferromagnético para el imán, se utiliza un campo magnético externo para magnetizar el material. Además, cuando se utiliza para el imán un material ferromagnético o no magnético, se aplica una corriente eléctrica al material para crear un electroimán. En una realización de la invención, el imán comprende uno o más de hierro, níquel, cobalto,

65

material de tierras raras tal como neodimio, cobre, aluminio, y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el imán puede generar una intensidad del campo magnético estático desde aproximadamente 0,01 Tesla (T) hasta aproximadamente 30 T, tal como desde aproximadamente 0,01 T hasta aproximadamente 10 T, desde aproximadamente 0,01 T hasta aproximadamente 7 T o desde aproximadamente 0,01 T hasta aproximadamente 5 T.

Preferentemente, la película o capa delgada de pasivación es más delgada que un tercio de la dimensión lineal máxima del elemento de detección y, en algunas realizaciones, comprende un material seleccionado de una lista que comprende uno o varios materiales resistentes, uno o varios materiales fotorresistentes, parileno C, SiO<sub>2</sub>, Si<sub>x</sub>N<sub>y</sub>, cerámicas y cerámicas derivadas de polímeros. La relación entre la película delgada de pasivación y la dimensión lineal máxima del elemento de detección es un parámetro importante a ajustar, dado que la sensibilidad disminuye rápidamente al alejarse de la superficie del elemento de detección, y lo hace proporcionalmente a funciones de potencias de la máxima dimensión lineal del elemento de detección.

A modo de ejemplo, para tener una sensibilidad al espín óptima dentro de la zona de detección del dispositivo, y suponiendo la presencia de una microbobina dentro del elemento de detección o excitación de aproximadamente 180 μm como dimensión lineal máxima, una película delgada de pasivación tendría, preferentemente, un grosor de menos de 15 μm para el análisis de embriones (de aproximadamente 100 μm de tamaño). Con un elemento de detección o excitación con una dimensión lineal máxima de 500 μm (para tejidos derivados de células madre que tienen un tamaño de aproximadamente 300 a 600 μm), sería adecuado un grosor de película de pasivación de hasta aproximadamente 40 μm. Para muestras de aproximadamente 1 mm de tamaño, tales como órganos o las denominadas gotas cancerígenas, sería adecuado un grosor de película de pasivación de hasta 100 micrómetros.

Algunas realizaciones de la invención contemplan microcámaras de biocultivo de resonancia magnética basadas en sensores optomagnéticos como elementos de detección. Se sabe que los fenómenos optomagnéticos son capaces de detección directa de las dinámicas de la magnetización de la muestra, habitual de los experimentos de resonancia magnética. Un ejemplo de dicho esquema de detección es el de los defectos de nitrógeno vacante en estructuras de diamante, donde la lectura óptica desde el elemento de detección se basa en excitación y detección con luz combinada, en algunas realizaciones, con excitación de microondas de los niveles de Zeeman de los electrones que están presentes en los defectos. También puede considerarse que las estructuras de diamante de esta clase son la base de herramientas de resonancia magnética ultracompactas, y se denominan habitualmente "centros de color".

Haciendo referencia a la figura 1, se muestra una realización esquemática de una configuración completa de resonancia magnética que comprende un microsistema de NMR (una "microcámara de biocultivo de resonancia magnética" o "μMRBM") **100**, según la invención. En la realización representada, el dispositivo **100** es enchufado en un receptáculo **1000** e introducido en un imán permanente o un electroimán **5000** para su uso. Las propiedades del imán **5000** pueden variar en función de la metodología utilizada para crear el campo magnético estático **B**. Los imanes permanentes **5000** pueden producir campos magnéticos **B** con intensidades de hasta 1 T, y por encima de este valor hasta unos pocos T cuando se utiliza una configuración de Halbach. Para campos magnéticos elevados, es decir, 5 T y superiores, se utilizan normalmente bobinas superconductoras con alta densidad de corriente inyectada. La conexión entre el receptáculo **1000** y la placa de circuito impreso en la que está alojado el μMRBM **100** se implementa mediante conectores eléctricos macho-hembra. Un cable multiseñal **4000** interconecta el receptáculo con una consola **3000**, que contiene electrónica bien conocida, y permite al usuario controlar parámetros experimentales y recoger datos mediante el sistema informático **2000**.

Haciendo referencia a la figura 2a, se muestra un diagrama, en vista superior, de dos realizaciones de geometrías de sensor ultracompacto **101**. En la realización mostrada a la izquierda, el sensor **101** comprende un elemento de detección y/o excitación **300** en estrecha proximidad, y adyacente en un plano a un elemento activo **200** y una serie de plaquitas **301**, mientras que en la realización de la derecha el elemento de detección y/o excitación **300** está rodeado por el elemento activo **200**. La figura 2b muestra representaciones 3D de las mismas dos realizaciones, mostrando, además, cables de unión **302** que conectan las plaquitas **301** con una placa de circuito impreso **400**.

En la figura 3 se muestra una realización de una vista esquemática de un μMRBM **100**. Un μMRBM básico **100** comprende cuatro componentes principales: un sensor de resonancia magnética ultracompacto **101**, una microestructura de alojamiento **500**, un recinto **700** y una capa de pasivación-unión **800**. En la realización mostrada en las figuras 3a y 3c, una muestra sólida **600**, tal como, por ejemplo, una muestra biológica, tal como un embrión, está situada en el interior de la microestructura de alojamiento **500** en una microcámara de cultivo **502**, en correspondencia con el elemento de detección y/o excitación **300**, para detectar un campo magnético en la zona de detección y/o excitación. La muestra **600** se mantiene en condiciones de cultivo adecuadas, incluyendo un medio de cultivo **601** en el interior de la estructura de cierre **700**. En la realización mostrada en la figura 3b, una tapa superior de cierre **701** cierra de manera estanca la estructura de cierre **700**, garantizando de ese modo la esterilidad y evitando fugas del medio.

Las realizaciones de la invención incluyen características adicionales que tratan otras necesidades, tales como: la necesidad de realizar mediciones a temperatura controlada, la necesidad de colocar verticalmente el  $\mu$ MRBM, la necesidad de perfundir el  $\mu$ MRBM, la necesidad de capturar muestras biológicas en la zona de detección, la necesidad de controlar otras propiedades de un medio de cultivo, la necesidad de realizar manipulaciones de espín utilizando bobinas auxiliares externas al sensor ultracompacto, etc.

En algunas realizaciones, una microestructura de alojamiento **500** puede estar conectada operativamente con canales de microfluído para permitir conexiones de fluido para, por ejemplo, descargas de líquido o del medio **601**, hacia y desde la microestructura de alojamiento **500**. En algunas realizaciones, el líquido descargado sirve, asimismo, como un vehículo para conducir la muestra **600** hacia, y desde un sitio de captura. En estas realizaciones de la invención, la muestra o las muestras **600** se mantienen en la microcámara de cultivo **502** mientras están confinadas a lo largo de la dirección perpendicular a la superficie del dispositivo ultracompacto, particularmente en el interior de la zona de detección definida por el elemento de detección **300**. Dicha característica es útil para, por ejemplo, utilizar el  $\mu$ MRBM **100** en un campo magnético vertical, donde el efecto de la gravedad y de las manipulaciones requeridas para colocar el  $\mu$ MRBM **100** en el campo magnético puede ser tal que la muestra **600** escape de la microcámara de cultivo **502** y, por lo tanto, de la zona de detección. Estas realizaciones de la invención pueden, asimismo, utilizarse para abordar las necesidades de una implementación en conjunto, donde múltiples muestras son analizadas en grandes cantidades simultáneamente y/o en cadena. La colocación de grandes cantidades de muestras y su recuperación se pueden tratar, en las realizaciones correspondientes, de manera automática y/o en una operación de enjuague individual.

Las realizaciones de la invención incluyen microestructuras de alojamiento **500** que comprenden tapas superiores (**501**; figura 3b). En el presente documento, "tapa superior para microestructura de alojamiento" significa un elemento, sobre la microestructura de alojamiento **500**, que se puede utilizar para confinar una muestra **600** alojada en la dirección perpendicular a la superficie del dispositivo ultracompacto **100**. Dicha característica es esencial para, por ejemplo, utilizar el  $\mu$ MRBM **100** en un campo magnético vertical, donde el efecto de la gravedad y de las manipulaciones requeridas para colocar el  $\mu$ MRBM en el campo magnético puede ser tal que la muestra escape de la microcámara de cultivo **502** y, por lo tanto, de la zona de detección. En estas realizaciones, el usuario puede manipular manualmente y/o de manera automatizada la tapa superior **501** de la microestructura de alojamiento **500** para acceder a la microcámara de cultivo **502** para la colocación y recuperación manual y/o automatizada de la muestra **600**.

Las realizaciones de la invención incluyen tapas superiores **501** que pueden tener diferentes funciones con respecto al medio líquido **601** contenido en el interior del recinto **700** y que rodea la muestra **600** en la microestructura de alojamiento **500**. Las tapas superiores **501** pueden permitir que fluya libremente líquido entre la microcámara de cultivo **502** y el recinto. Dichas tapas superiores se pueden conseguir, por ejemplo, teniendo una estructura perforada como tapa superior. Las tapas superiores pueden incluir, asimismo, una parte semipermeable, tal como se muestra a modo de ejemplo en la figura 3b, que puede impedir selectivamente un flujo saliente de especies moleculares de la microcámara de cultivo **502** al depósito de líquido contenido en el interior del recinto **700** y/o producido por la muestra **600** (por ejemplo, producido por reacciones químicas o por el metabolismo de una muestra biológica). Análogamente, la parte semipermeable puede, asimismo, impedir un flujo entrante, en la microcámara de cultivo **502**, de especies moleculares consumidas por la muestra (por ejemplo, consumidas por reacciones químicas o por el metabolismo de una muestra biológica). Las tapas superiores pueden impedir cualquier intercambio de líquido entre la microcámara de cultivo **502** y el recinto **700**.

Las realizaciones de la invención incluyen tapas superiores **501** que están basadas en "mecanismos biestables". Un "mecanismo biestable" es uno en el que la energía potencial del sistema tiene dos mínimos locales separados por un máximo. Los mínimos son las dos posibles posiciones de equilibrio del sistema, que se pueden denominar abierto/cerrado o encendido/apagado. El máximo actúa como una barrera entre las dos posiciones. La conmutación entre las dos posiciones de equilibrio requiere la aplicación de una suficiente fuerza externa controlada. Esta fuerza se puede proporcionar mediante varios procedimientos que incluyen: gravedad mediante reorientación del  $\mu$ MRBM **100**, fuerza mecánica aplicada localmente a la tapa superior **501**, un sistema piezoeléctrico, un sistema electroforético, un sistema optomecánico que actúa sobre la tapa superior **501**, un sistema magnético, sistemas neumáticos o combinaciones adecuadas de los mismos. Las realizaciones de la invención incluyen, asimismo, "mecanismos multiestables", donde está presente más de un mínimo local de la energía potencial. Un ejemplo de dicho mecanismo multiestable es el sistema de trinquete.

Las realizaciones de la invención incluyen tapas superiores **501** que se basan en "mecanismos de pivotamiento". Un "mecanismo de pivotamiento" es uno en el que la tapa superior puede rotar libremente en torno a un punto de pivotamiento situado en la microestructura de alojamiento **500**. Un ejemplo es uno en el que la dirección de rotación es paralela a la superficie superior de la microestructura de alojamiento **500**. En esta configuración, el intervalo angular de rotación de la tapa superior puede ser ilimitado o limitado, por

ejemplo, mediante salientes oportunamente situados en la superficie del dispositivo ultracompacto **100**. Otro ejemplo de mecanismo de pivotamiento es uno en el que la tapa superior **501** rota en torno a una unión que es paralela a la superficie superior de la microestructura de alojamiento **500**. En tal configuración, la tapa superior **501** actuaría como una escotilla para la microcámara de cultivo **502**.

Las realizaciones de la invención incluyen tapas superiores **501** que se basan en "mecanismos de puerta deslizante". Tales mecanismos son aquellos en los que la tapa superior **501** se desliza en guías incorporadas en la microestructura de alojamiento **500**. La dirección y el intervalo de deslizamiento están definidos por las guías. Un ejemplo es uno en el que las guías son ranuras en las microestructuras de alojamiento que se corresponden con salientes complementarios en la tapa superior **501**.

Según una realización de la invención, la microestructura de alojamiento **500** y la tapa superior **501** se pueden fabricar utilizando escritura láser directa por medio de fotopolimerización de dos fotones. En el caso de un "mecanismo biestable", la microestructura de alojamiento **500** y la tapa superior **501** se fabrican como una sola unidad que permanece como tal durante su uso. En otra realización (por ejemplo, un "mecanismo de pivotamiento" o un "mecanismo de puerta deslizante"), la microestructura de alojamiento **500** y la tapa superior **501** se pueden fabricar como una estructura monolítica, donde las dos se mantienen juntas mediante conexiones que se eliminan antes de la utilización, obteniéndose así dos objetos independientes. Alternativamente, los dos objetos se pueden fabricar por separado y, a continuación, combinarse antes de su utilización.

Las realizaciones de la invención incluyen microestructuras de alojamiento **500** con microcámaras de cultivo **502** cerradas de manera estanca, en las que se encierra una sustancia (por ejemplo, agua o caucho) durante la fabricación. Dichas sustancias encerradas se pueden fabricar mediante cualquier mecanismo de cierre estanco, por ejemplo, por técnicas de unión, donde primero se fabrica la microestructura con el techo abierto, y posteriormente se cierra uniéndolo una capa de tapa. La unión entre microestructuras es, asimismo, posible utilizando materiales que tienen una alta compatibilidad con experimentos de resonancia magnética de líquidos y muestras biológicas (polímero, vidrio, semiconductores, cerámicas). Todos estos son procedimientos bien establecidos para cada caso particular de material, para sellar adecuadamente el canal con el fin de evitar fugas de líquido.

Según una realización de la invención, la microestructura de alojamiento **500** se puede fabricar por medio de técnicas de microfabricación basadas en secuencias que involucran recubrimientos de material, fotolitografía, revelado y grabado. Una microestructura de alojamiento cubierta se puede fabricar, en particular, mediante micromecanizado de superficie utilizando un enfoque de capa de sacrificio, donde una capa estructurada soterrada es extraída mediante una etapa de eliminación de sacrificio por medio de soluciones de ataque o disolventes. Por ejemplo, la fotolitografía de polímeros de alta relación de aspecto (tales como SU-8, Ormocers, etc...) son materiales resistentes gruesos, transparentes, compatibles con los requisitos de la microestructura.

Las propiedades geométricas y la naturaleza de los materiales utilizados para realizar la microestructura de alojamiento se tienen en cuenta en el diseño, dado que pueden afectar significativamente al rendimiento del instrumento. Por supuesto, los expertos en la materia saben que las propiedades geométricas combinadas con las propiedades de susceptibilidad magnética son parámetros de extrema importancia dado que están relacionados directamente con las distorsiones del campo magnético en la zona de detección y, por lo tanto, con el ensanchamiento de las líneas espectrales. La susceptibilidad magnética de un material, indicada como  $\chi_v$ , está definida por la relación  $M = \chi_v H_0$ , donde  $B$  es la magnetización del material cuando este está sumergido en la intensidad del campo magnético externo  $H_0$ . En esta definición,  $\chi_v$  es una cantidad adimensional y que está relacionada con la capacidad del material para generar magnetización cuando es sometido a un campo magnético.

Dado que el  $\mu$ MRBM según la invención está concebido, entre otras aplicaciones, para el análisis de muestras sumergidas en medios de cultivo, se considera que en la zona de detección estarán presentes medios líquidos que tengan una susceptibilidad similar a la del agua ( $H_2O$ ). Dichos líquidos estarán en contacto directo con los bordes de la microestructura de alojamiento y, por lo tanto, generarán superficies en las que existen desajustes en la susceptibilidad magnética. Denominando  $\chi_1$  y  $\chi_2$  a las susceptibilidades magnéticas de las superficies desajustadas, se tendrán como resultado distorsiones del campo magnético que son directamente proporcionales a  $(\chi_1 - \chi_2) B_0 \sin(\theta)$ , donde  $\theta$  es el ángulo entre el campo externo estático y la superficie desajustada.

Por consiguiente, las microestructuras de alojamiento **500** que implementan realizaciones de la invención se fabrican de materiales que tienen una alta compatibilidad con experimentos de resonancia magnética de líquidos y muestras biológicas. Dichos materiales están caracterizados por una susceptibilidad magnética que no difiere de la del agua en más de 10 ppm de  $\chi_{H_2O}$ . Dichos materiales incluyen, entre otros: siliconas, materiales fotorresistentes, la mayor parte de los polímeros (por ejemplo, acrílico), epoxis, geles (por ejemplo, geles basados en alginato y agarosa), vidrios, poliuretanos, teflón, cerámicas.

- En los  $\mu$ MRBM **100** según la invención, un elemento esencial es una capa de pasivación-uni3n **800**, tal como se indica en la figura 3. Dicha capa **800** tiene m3ltiples funciones: como elemento de uni3n, como capa de pasivaci3n y como capa funcionalizada. La uni3n es entre la microestructura de alojamiento **500** y el sensor ultracompacto. Dicho rol de uni3n es esencial para proporcionar la necesaria robustez que hace que el  $\mu$ MRBM **100** sea f3cil de usar y se acepte f3cilmente en la pr3ctica diaria. El rol de pasivaci3n es esencial para impedir una conexi3n el3ctrica entre el sensor y el medio. Sin pasivaci3n, un  $\mu$ MRBM presentar3 problemas en su funcionamiento el3ctrico.
- Seg3n una realizaci3n espec3fica de la invenci3n, la capa de pasivaci3n-uni3n se puede fabricar mediante t3cnicas de deposici3n f3sica de vapor (PVD), evaporaci3n t3rmica o de haz de electrones en una c3mara de vac3o, o mediante pulverizaci3n cat3dica en una c3mara de plasma. Ambos procedimientos est3n bien establecidos para la deposici3n de pel3culas diel3ctricas delgadas, tales como parileno, SiO<sub>2</sub>, SiN, etc. En algunas variaciones, la pel3cula delgada recubierta es conforme y no s3lo cubre la superficie superior sino asimismo las paredes laterales y partes del esp3cimen que est3n en la sombra de la fuente de material. El recubrimiento con aerosol de cer3micas o cer3micas derivadas de pol3meros son procedimientos posibles para obtener una capa de pasivaci3n-uni3n.
- En realizaciones de la invenci3n, la capa de pasivaci3n-uni3n **800** se explota, mediante tratamientos de superficie, como un sustrato para ser adaptado tanto al crecimiento celular como a la exposici3n a medios espec3ficos. Una capa funcionalizada **800** permite al usuario personalizar las propiedades superficiales en funci3n de las necesidades y circunstancias, tal como las aplicaciones buscadas y la muestra a analizar, para extender la gama de aplicaciones. A modo de ejemplo, el poli-cloro-p-xilileno, a menudo denominado parileno C, es un material adecuado para una capa de pasivaci3n-uni3n **800** en un  $\mu$ MRBM **100**, dado que se sabe que este est3 capacitado para encapsulamiento, caracter3sticas de barrera de electrolitos, inercia qu3mica y biocompatibilidad de alta calidad. Tambi3n es sabido, por los expertos en la materia, que la superficie de materiales tales como parileno C, SiO<sub>2</sub> u otras capas de pasivaci3n-uni3n candidatas, se puede tratar para cambiar las propiedades hidr3filas y mejorar la interacci3n con las c3lulas que crecen en contacto con este sustrato. Las realizaciones de la invenci3n incluyen  $\mu$ MRBM **100** con una capa de pasivaci3n-uni3n **800** tratada en superficie, para mejorar las propiedades de biocompatibilidad e hidr3filas de la misma. Se sabe que las capas de pasivaci3n-uni3n **800** de parileno C, que se utilizan en la realizaci3n preferente de la invenci3n, presentan propiedades que se comparan favorablemente con sustratos de cultivo de tejido est3ndar, una vez su superficie es tratada oportunamente.
- En algunas realizaciones de la invenci3n, un  $\mu$ MRBM **100** es sometido a tratamientos de plasma de ox3geno, irradiaci3n de UV, procesos de silanizaci3n, procedimientos de revestimiento adicionales, impresi3n por inyecci3n de goteo controlado, PVD local mediante m3scaras de sombra, injerto de pol3meros. Se puede considerar que todos estos tratamientos se utilizan por separado o en combinaci3n por medio de protocolos de m3ltiples etapas. En algunas realizaciones de la invenci3n, se aplica solamente un tratamiento de superficie sobre toda la superficie expuesta. En algunas realizaciones de la invenci3n, se realiza solamente un tratamiento de superficie sobre zonas objetivo de la capa de pasivaci3n-uni3n **800** expuesta. En algunas realizaciones de la invenci3n, existe una combinaci3n de procedimientos de tratamiento de superficie que se dirigen individualmente a toda la superficie expuesta, o bien a una sola o a m3ltiples 3reas secundarias de la capa de pasivaci3n-uni3n **800** expuesta. En algunas realizaciones de la invenci3n, el mismo tratamiento de superficie se aplica en m3ltiples etapas que se dirigen a diferentes 3reas de la capa de pasivaci3n-uni3n **800** o a toda la superficie expuesta.
- En algunas realizaciones, el dispositivo de la invenci3n comprende un sensor de temperatura ambiente en el interior del recinto **700** para medir la temperatura del medio que rodea el l3quido/cultivo. Adem3s, en algunas otras realizaciones seg3n la invenci3n, el  $\mu$ MRBM **100** puede comprender uno o varios elementos de calentamiento y/o uno o varios elementos de refrigeraci3n dirigidos a controlar la temperatura del medio que rodea el l3quido/cultivo.
- Tanto en NMR como en ESR, las manipulaciones de la magnetizaci3n de la muestra y/o del campo magn3tico en el que est3 sumergida la muestra proporcionan maneras potentes de extraer informaci3n durante el experimento. Un ejemplo es la denominada secuencia CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill), en la que la magnetizaci3n de la muestra se invierte en el espacio con la ayuda de medir las propiedades de relajaci3n de la se3al NMR. Otro ejemplo es la secuencia WATERGATE (Water suppression by Gradient Tailored Excitation, supresi3n del agua mediante excitaci3n adaptada por gradiente), en la que se a3aden gradientes de campos pulsados al campo est3tico y, combinados con pulsos de excitaci3n selectivos, permiten la supresi3n de la se3al del agua. Otro ejemplo est3 dado por la formaci3n de im3genes de resonancia magn3tica, en la que los gradientes de campos pulsados est3n en la base de los procedimientos de reconstrucci3n de imagen.
- En algunas realizaciones, el  $\mu$ MRBM **100** de la invenci3n comprende uno o varios inductores, tambi3n denominados en el presente documento "bobinas auxiliares" **303/305**, configurados para introducir

manipulaciones (más allá de la que se realiza con el elemento de excitación/detección) de magnetización de la muestra y/o manipulaciones del campo estático externo (por ejemplo, mediante gradientes de campo y/o inversiones de espín; figuras 4 y 5). Dichos inductores **303/305** pueden ser utilizados, posiblemente, también para detectar o mejorar la potencia de detección del  $\mu$ MRBM **100**. Dichas bobinas auxiliares **303/305** están:

5 conectadas a la placa **400** que aloja el  $\mu$ MRBM **100**; conectadas a cables que están desacoplados de la placa o placas de circuito impreso **400** del  $\mu$ MRBM; cortocircuitadas para funcionamiento vía acoplamiento inductivo; conectadas a estructuras que son parte del inserto que sostiene directamente, o no, el  $\mu$ MRBM **100**; conectadas a estructuras que están sostenidas y/o solamente guiadas por el orificio/abertura del imán; conectadas a plaquitas de microchips; conectadas a la electrónica del microchip; conectadas a

10 microelectrónica integrada conjuntamente con el sensor ultracompacto. Las bobinas auxiliares pueden, además, clasificarse como bobinas "externas" o "internas".

Las realizaciones de la invención, tal como se muestra en la figura 4, incluyen "bobinas auxiliares externas" **303** dirigidas a manipulaciones de magnetización de muestras y/o manipulaciones del campo estático externo mediante circulación de corrientes **304**. Las bobinas auxiliares externas **303** son inductores que tienen cualquier geometría, capaces de producir perturbación magnética en la zona de detección del  $\mu$ MRBM **100**, cuyos devanados metálicos son tales que la corriente que pasa a través de la bobina no circula a través del metal que pertenece al mismo sustrato de microchip que contiene el sensor ultracompacto **101**. Las bobinas auxiliares externas **303** pueden estar contenidas en microchips o microestructuras diferentes de los que integran el sensor ultracompacto **101**. Las bobinas auxiliares externas se pueden implementar en la microestructura de alojamiento **500** que define el  $\mu$ MRBM **100**. La figura 4 muestra dos ejemplos básicos de bobinas auxiliares externas **303** que complementan un sensor ultracompacto **101**. Una manera de añadir una bobina de gradiente y/o de excitación es colocarla físicamente rodeando el  $\mu$ MRBM **100**: esta estrategia se puede utilizar para reciclar bobinas de gradiente pulsadas estándar, utilizadas en sondas NMR estándar

15 (figura 4a).

20

25

La figura 4b muestra, asimismo, la posibilidad de utilizar bobinas unilaterales situadas en estrecha proximidad con el  $\mu$ MRBM **100**. Dichas bobinas se pueden utilizar para implementar tanto gradientes pulsados como pulsos de excitación. Su uso para la generación de pulsos de excitación puede ser ventajoso, por ejemplo, en casos en los que la homogeneidad del campo magnético es crítica o en experimentos de excitación heteronuclear. Las bobinas auxiliares externas **303** pueden tener cualesquiera geometría y tamaño. Las bobinas auxiliares externas **303** se pueden colocar en torno al recinto **700** del  $\mu$ MRBM (por lo tanto, no en contacto con el medio líquido **601**), en el interior del recinto **700** (por lo tanto, en contacto con el medio líquido **601**), o una combinación de ambos.

30

35

Las realizaciones de la invención incluyen "bobinas auxiliares internas" **305** dirigidas a manipulaciones de magnetización de muestras y/o manipulaciones del campo estático externo. Las bobinas auxiliares internas son inductores que tienen cualquier geometría, capaz de producir perturbación magnética en la zona de detección del  $\mu$ MRBM **100**, cuyos devanados metálicos son tales que la corriente que pasa a través de dicho inductor, por lo menos durante una parte de su trayecto total, circula a través de metal que pertenece al mismo sustrato de microchip que contiene el sensor ultracompacto **101** (las plaquitas de unión se pueden considerar de esta clase). La figura 5 muestra dos ejemplos básicos de bobinas auxiliares internas **305**. En la figura 5a, la unión de cables y los metales en el chip forman inductores que se pueden utilizar para manipulación del campo dentro de la zona de detección. Las bobinas auxiliares internas se pueden fabricadas en cualquier geometría y presentar cualquier tamaño. En la figura 5b, se muestra el caso de una bobina auxiliar **305** fuertemente acoplada al elemento de detección **300** y realizada íntegramente con las capas metálicas disponibles en el microchip que aloja el sensor ultracompacto **101**. Con el mismo enfoque, es posible realizar bobinas de gradiente que actúen localmente en la zona de detección. Las bobinas auxiliares internas **305** están situadas, por lo menos parcialmente, en el interior del recinto **700** (por lo tanto, en contacto con el medio líquido **601**). Las bobinas auxiliares internas **305** pueden, asimismo, utilizarse más eficientemente con respecto a las externas para mejorar o complementar la detección: las realizaciones de la invención incluyen  $\mu$ MRBM **100** que tienen múltiples bobinas de detección dirigidas al mismo espacio de volumen.

40

45

50

Las realizaciones de la invención contemplan  $\mu$ MRBM organizados, en las que múltiples  $\mu$ MRBM **100** pueden funcionar en el mismo campo magnético estático (figura 6). Un  $\mu$ MRBM organizado se puede realizar como una colección de  $\mu$ MRBM separados **100** situados en la misma placa de circuito impreso **400** o situados en placas de circuito independientes que se interconectan de manera modular. Un  $\mu$ MRBM organizado contiene múltiples elementos de excitación/detección **300** que pueden estar interconectados con: un único sistema electrónico integral implementado en un único sustrato de microchip **101**, un único sistema electrónico integral implementado en múltiples sustratos de microchip **101**, sistemas electrónicos independientes implementados en un único sustrato de microchip **101**, sistemas electrónicos independientes implementados en sustratos de microchip separados **101**. Por definición de  $\mu$ MRBM, los sensores organizados ultracompactos **101** se implementan junto con microestructuras de alojamiento **500**, la capa de pasivación-unión **800** y el recinto externo **700**. La microestructura o microestructuras de alojamiento **500** se pueden fabricar mediante una sola microestructura que interactúa con todos los elementos de excitación y/o

55

60

65

detección **300**, mediante microestructuras múltiples y separadas **500** que están interconectadas con un único elemento de excitación y/o detección **300**, o mediante microestructuras múltiples y separadas **500** que están interconectadas con más de un elemento de excitación y/o detección **300**. El recinto **700** en  $\mu$ MRBM organizados puede ser uno que contenga todo el conjunto, o estar separado en múltiples recintos independientes **700** que contienen un  $\mu$ MRBM o bien un  $\mu$ MRBM organizado. Todas las configuraciones mencionadas anteriormente, y las combinaciones de las mismas, definen un  $\mu$ MRBM organizado.

La figura 6a muestra un  $\mu$ MRBM organizado en el que los  $\mu$ MRBM individuales **100** están situados en la misma placa de circuito impreso **400**. La figura 6b muestra un  $\mu$ MRBM organizado que contiene múltiples sensores ultracompactos **101**, y una única microestructura de alojamiento **500** dirige individualmente cada zona de excitación y/o detección. Los múltiples  $\mu$ MRBM **100** se pueden utilizar en paralelo, utilizando los mismos parámetros experimentales, para aumentar la capacidad y, por lo tanto, las estadísticas. Alternativamente, los  $\mu$ MRBM individuales **100** en un conjunto se pueden utilizar para llevar a cabo simultáneamente múltiples experimentos, tales como: espectroscopía 1D, espectroscopía 2D (espectroscopía de correlación, espectroscopía J, espectroscopía de intercambio, etc.), medición de tiempos de relajación  $T_1$  y  $T_2$ . Además, un subconjunto de los  $\mu$ MRBM se puede dejar sin muestras y utilizar para medición del fondo. Asimismo, para las realizaciones de un  $\mu$ MRBM organizado, se pueden contemplar bobinas auxiliares **303/305**, dirigidas a manipulaciones de magnetización de muestras y/o manipulaciones del campo estático externo.

## REFERENCIAS

1. Massin, C., *et al.*, "High-Q factor RF planar microcoils for micro-scale NMR spectroscopy". Sensors and Actuators a-Physical, 2002. 97-8: página 280.
2. Olson, D.L., *et al.*, "High-Resolution Microcoil H-1-Nmr for Mass-Limited, Nanoliter-Volume Samples". Science, 1995. 270(5244): página 1967.
3. Spengler, N., *et al.*, "Micro-fabricated Helmholtz coil featuring disposable microfluidic sample inserts for applications in nuclear magnetic resonance". Journal of Micromechanics and Microengineering, 2014. 24(3).
4. Grisi, M., G. Gualco y G. Boero, "A broadband single-chip transceiver for multi-nuclear NMR probes". Review of Scientific Instruments, 2015. 86(4).
5. Ha, D., *et al.*, "Scalable NMR spectroscopy with semiconductor chips". Proceedings of the National Academy of Sciences, 2014.
6. Kim, J., B. Hammer y R. Harjani, "A 5-300 MHz CMOS Transceiver for Multi-Nuclear NMR Spectroscopy". 2012 IEEE Custom Integrated Circuits Conference (CICC), 2012.
7. Sun, N., *et al.*, "CMOS RF Biosensor Utilizing Nuclear Magnetic Resonance", IEEE Journal of Solid-State Circuits, 2009. 44(5): página 1629.

**REIVINDICACIONES**

1. Dispositivo (100), que comprende:
- 5 un sistema de resonancia magnética miniaturizado (101), que comprende
- a) por lo menos un elemento de detección (300) que proporciona una zona de detección y/o excitación, y  
 b) un elemento activo (200) configurado para transmitir una señal de excitación al, por lo menos, un  
 10 elemento de detección (300) y/o para recibir una señal de entrada de dicho, por lo menos, un elemento de  
 detección (300) y que incluye electrónica;
- un recinto (700) que define un volumen cerrado y contiene un líquido, y  
 una microestructura de alojamiento (500) que define una cámara de cultivo celular (502) que tiene un  
 volumen comprendido entre 0,1 nL y 1 µL;
- 15 **caracterizado por que**  
 dicha cámara de cultivo celular (502) está comprendida dentro de dicho recinto (700) y en contacto con dicho  
 líquido en dicho recinto (700);  
 el dispositivo comprende una capa de pasivación-uni3n (800) que cubre, por lo menos, una parte de dicho  
 sistema (101) y dicha cámara (502), que actúa como un material de pantalla aislante que impide conexiones  
 20 físicas, químicas y/o eléctricas entre componentes eléctricos y medios líquidos; y  
 dicho elemento de detección (300) y dicho elemento activo (200) están integrados conjuntamente,  
 adyacentes en un plano o apilados verticalmente, en una misma placa de circuito impreso (400) y dicha  
 cámara de cultivo (502) está situada sobre dicho elemento de detección (300).
- 25 2. Dispositivo, según la reivindicación 1, que comprende una zona de detección y/o excitación definida por  
 dicho elemento de detección (300), en el que dicha cámara (502) está situada en el interior de dicha zona.
3. Dispositivo, según la reivindicación 2, en el que dicha zona de detección es menor de 1 µL.
- 30 4. Dispositivo, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicha capa de pasivación-uni3n  
 (800) tiene un grosor comprendido entre 1 nm y 100 µm.
5. Dispositivo, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho elemento de detección  
 (300) es una microbobina que tiene un diámetro interior comprendido entre 0,1 y 0,5 mm.
- 35 6. Dispositivo, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicha cámara de cultivo (502)  
 tiene un suelo fabricado de dicha capa de pasivación-uni3n (800).
7. Dispositivo, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicha capa (800) comprende una  
 película delgada de un material depositado, seleccionado de entre una lista que comprende uno o varios  
 40 materiales resistentes, uno o varios materiales fotorresistentes, parileno C, SiO<sub>2</sub>, Si<sub>x</sub>N<sub>y</sub>, cerámicas y  
 cerámicas derivadas de polímeros.
8. Dispositivo, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende, además, una tapa  
 superior (501) situada sobre la microestructura de alojamiento (500), configurada para confinar una muestra  
 45 biológica (600) en el interior de la cámara de cultivo (502).
9. Dispositivo, que comprende, además, un imán permanente o un electroimán (5000) que puede generar un  
 campo magnético estático.
- 50 10. Procedimiento para fabricar un dispositivo (100), según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a  
 8, que comprende las etapas de:
- a) proporcionar un sistema de resonancia magnética miniaturizado (101), que comprende
- 55 a1) por lo menos un elemento de detección (300) que proporciona una zona de detección y/o excitación, y  
 b1) un elemento activo (200) configurado para transmitir una señal de excitación al, por lo menos, un  
 elemento de detección (300) y/o para recibir una señal de entrada de dicho, por lo menos, un elemento de  
 detección (300) y que incluye electrónica;
- 60 b) proporcionar una microestructura de alojamiento (500) que define una cámara de cultivo celular (502)  
 que tiene un volumen comprendido entre 0,1 nL y 1 µL;
- c) poner en contacto dicho sistema de resonancia magnética miniaturizado (101) con dicha microestructura  
 (500); y
- 65 d) unir dicho sistema (101) a dicha microestructura (500) mediante un proceso de deposición en  
 condiciones que permiten obtener dicha capa de pasivación-uni3n (800), que actúa como un material de

pantalla aislante que impide conexiones físicas, químicas y/o eléctricas entre componentes eléctricos y medios líquidos, y que cubre, por lo menos, una parte de dicho sistema (101) y dicha cámara de cultivo celular (502), creando de ese modo una cámara de cultivo celular (502) que tiene un suelo fabricado de dicha capa (800),

5

que comprende, además, una etapa de poner en contacto dicho sistema (101) con un recinto (700) que define un volumen cerrado,

en el que dicho elemento de detección (300) y dicho elemento activo (200) están integrados conjuntamente, adyacentes en un plano o apilados verticalmente, en una misma placa de circuito impreso (400) y dicha cámara de cultivo (502) está situada sobre dicho elemento de detección (300).

10

11. Procedimiento, según la reivindicación 10, en el que dicho proceso de deposición se selecciona entre deposición química de vapor y deposición física de vapor.

15

12. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, en el que dicha capa de pasivación-  
unión (800) tiene un grosor comprendido entre 1 nm y 100  $\mu\text{m}$ .

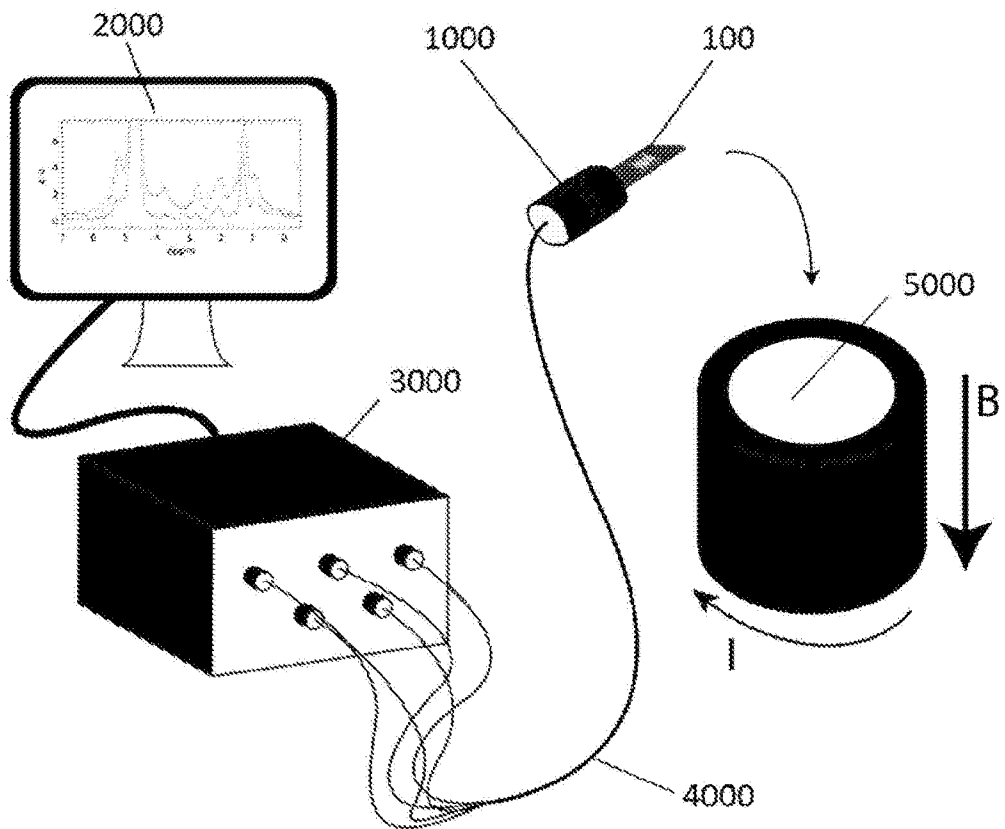


Figura 1

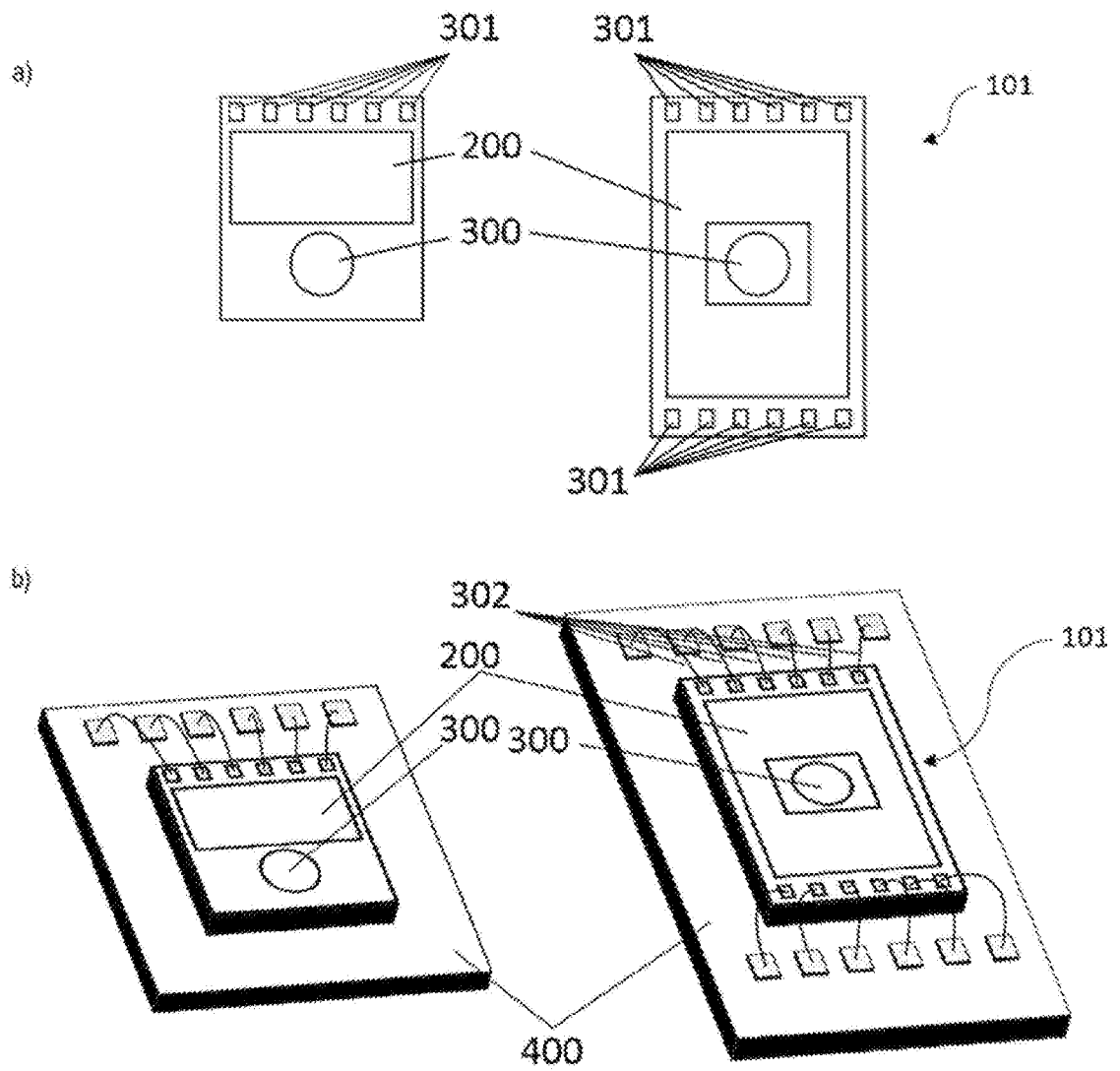


Figura 2

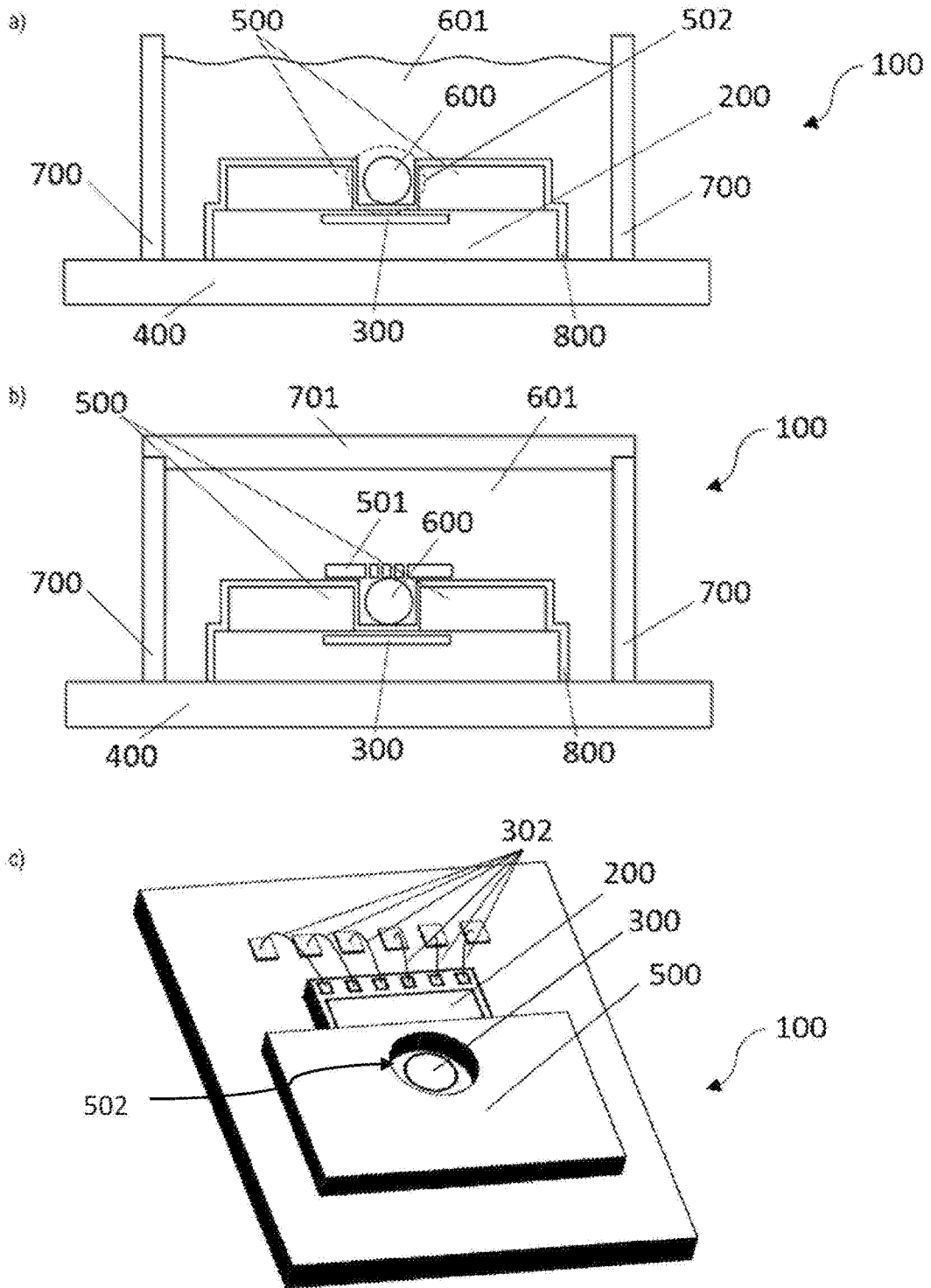


Figura 3

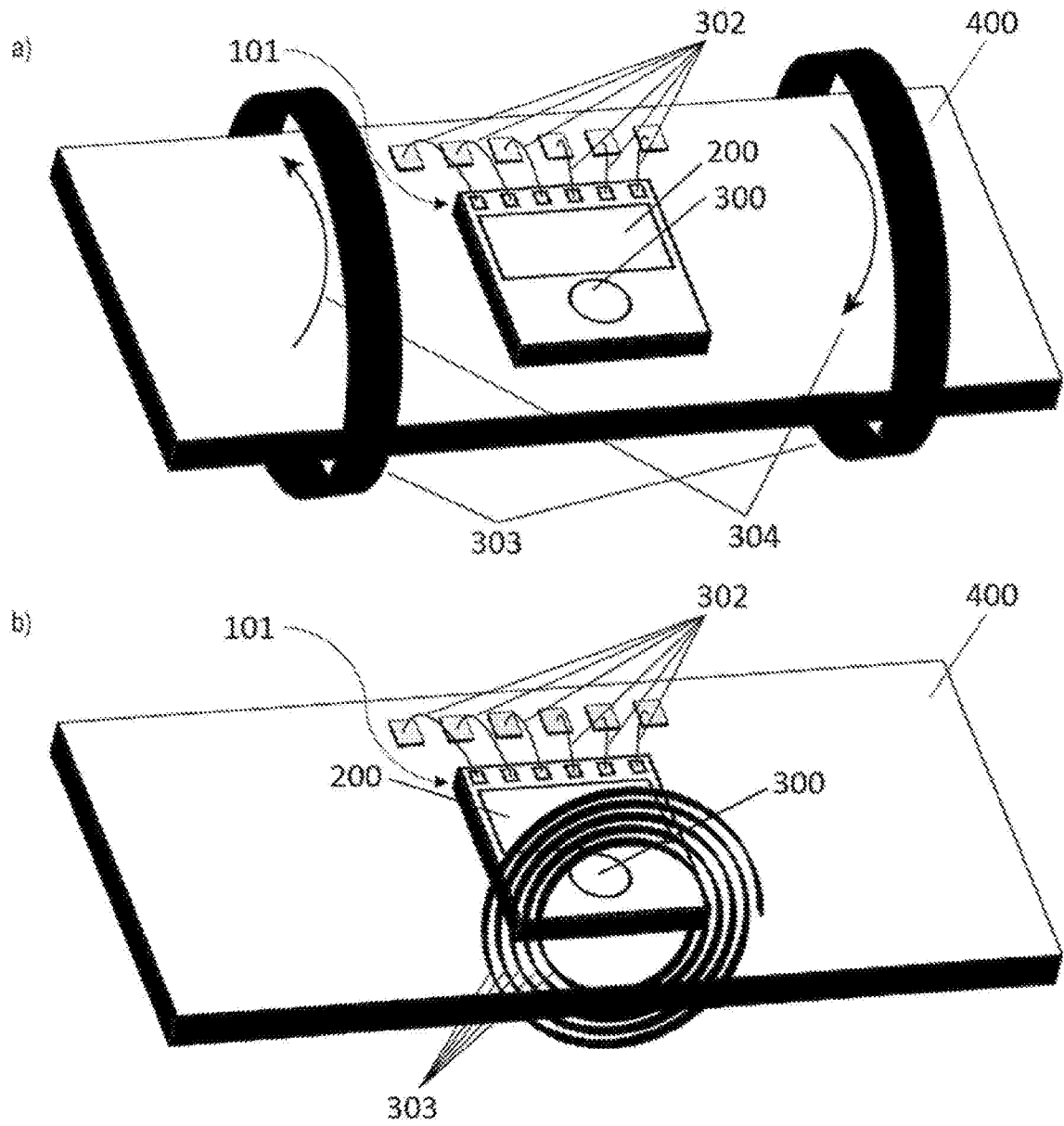


Figura 4

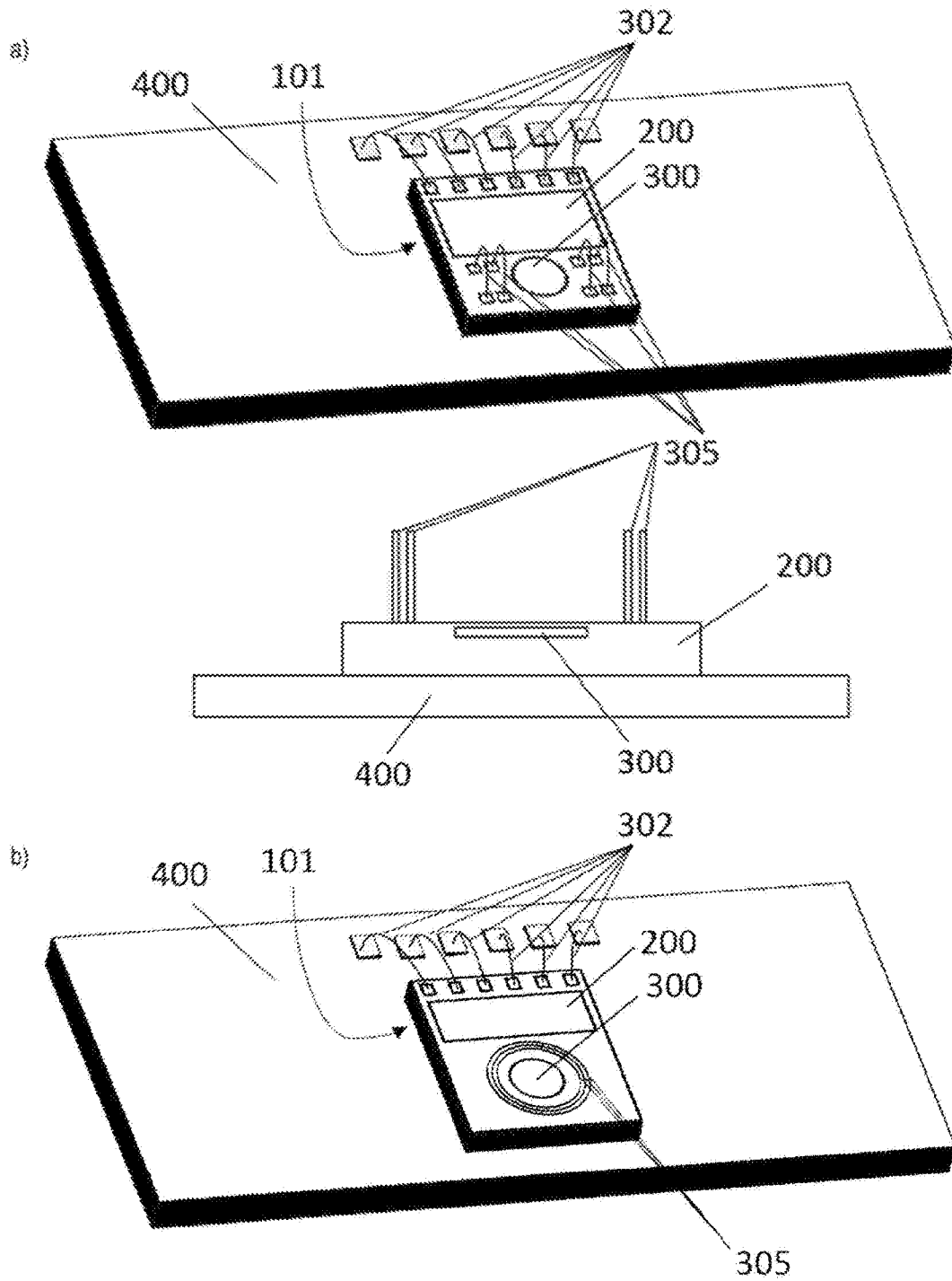


Figura 5

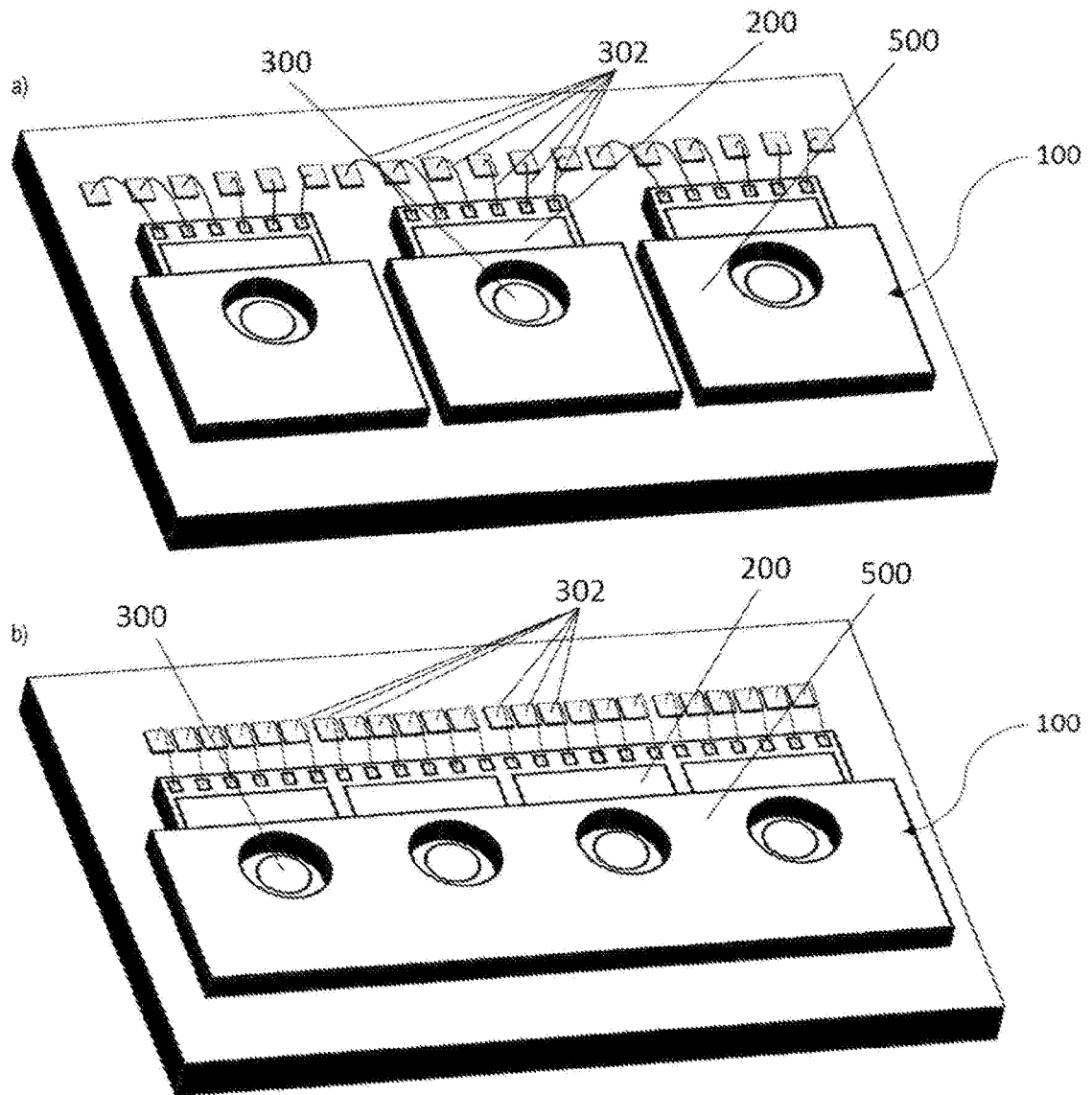


Figura 6

**REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN**

*Esta lista de referencias citada por el solicitante es únicamente para mayor comodidad del lector. No forman parte del documento de la Patente Europea. Incluso teniendo en cuenta que la compilación de las referencias se ha efectuado con gran cuidado, los errores u omisiones no pueden descartarse; la EPO se exime de toda responsabilidad al respecto.*

**Documentos de patentes citados en la descripción**

- US 20110091987 A
- WO 2008091364 A

**Literatura no patente citada en la descripción**

- **TIAN FOOK KONG et al.** Adhesive-based liquid metal radiofrequency microcoil for magnetic resonance relaxometry measurement. *Lab on a Chip*, 01 January 2012, vol. 12 (2), 287-294
- **MASSIN, C. et al.** High-Q factor RF planar microcoils for micro-scale NMR spectroscopy. *Sensors and Actuators a-Physical*, 2002, vol. 97-8, 280
- **OLSON, D.L. et al.** High-Resolution Microcoil H-1-Nmr for Mass-Limited, Nanoliter-Volume Samples. *Science*, 1995, vol. 270 (5244), 1967
- **SPENGLER, N. et al.** Micro-fabricated Helmholtz coil featuring disposable microfluidic sample inserts for applications in nuclear magnetic resonance. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 2014, vol. 24 (3)
- **GRISI, M. ; G. GUALCO ; G. BOERO.** A broadband single-chip transceiver for multi-nuclear NMR probes. *Review of Scientific Instruments*, 2015, vol. 86 (4)
- **HA, D. et al.** Scalable NMR spectroscopy with semiconductor chips. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014
- **KIM, J. ; B. HAMMER ; R. HARJANI.** A 5-300MHz CMOS Transceiver for Multi-Nuclear NMR Spectroscopy. *2012 IEEE Custom Integrated Circuits Conference (CICC)*, 2012
- **SUN, N. et al.** CMOS RF Biosensor Utilizing Nuclear Magnetic Resonance. *IEEE Journal of Solid-State Circuits*, 2009, vol. 44 (5), 1629