



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 0716635-4 A2



* B R P I 0 7 1 6 6 3 5 A 2 *

(62) Data de Depósito do Pedido Original:
PI0621691 - 19/12/2006

(22) Data de Depósito: 07/09/2007

(43) Data da Publicação: 15/10/2013
(RPI 2232)

(51) Int.Cl.:

G01N 33/543

G01N 21/25

H01L 51/42

(54) Título: SISTEMA DE DETEÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE MATÉRIA BIOLÓGICA CONSTITUÍDO POR UM OU MAIS SENSORES ÓTICOS E UMA OU MAIS FONTES LUMINOSAS, PROCESSO ASSOCIADO E RESPECTIVAS UTILIZAÇÕES

(30) Prioridade Unionista: 08/09/2006 PT 103561

(73) Titular(es): Universidade Nova de Lisboa

(72) Inventor(es): Elvira Maria Correia Fortunato, Pedro Miguel Ribeiro Viana Baptista, Rodrigo Ferrão de Paiva Martins

(74) Procurador(es): Orlando de Souza

(86) Pedido Internacional: PCT IB2007053614 de 07/09/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2008/029374de
13/03/2008

(57) Resumo: MÉTODO E APARELHO PARA TRANSMITIR DADOS. Uma implementação fornece um transmissor que separa porções sequenciais de dados em um primeiro conjunto de dados por intervalos de tempo permitindo um modo de economia de energia (1005). O transmissor transmite as porções sequenciais de dados separadas por respectivos intervalos de tempo tendo comprimentos configurados para permitir um receptor entrar e sair de um modo de economia de energia entre as porções de dados de recepção sequencialmente transmitidas do primeiro conjunto de dados (1010). O transmissor separa as porções sequenciais de dados em um segundo conjunto por intervalos de tempo que não são de comprimento suficiente para permitir um receptor entrar e sair de um modo de economia de energia durante os intervalos de tempo (1015). O segundo conjunto de dados é depois transmitido (1020).

SISTEMA DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE MATÉRIA BIOLÓGICA
CONSTITUÍDO POR UM OU MAIS SENSORES ÓTICOS E UMA OU MAIS
FONTES LUMINOSAS, PROCESSO ASSOCIADO E RESPECTIVAS
UTILIZAÇÕES

5 Campo da Invenção

A presente invenção relaciona-se com um novo sistema e processo para análise molecular de amostra ou solução aquosa de composto biológico, baseado em métodos colorimétricos (detecção, quantificação e identificação).

10 O sistema é constituído por uma fonte luminosa monocromática, controlável, sensor ótico capaz de detectar e quantificar as diferenças colorimétricas produzidas por soluções contendo nanossondas de metal, sendo este preferencialmente o ouro.

15 Estas sondas podem ser funcionalizadas por oligonucleotídeos complementares a sequências específicas de ADN/ARN, proteínas, como por exemplo anticorpos e/ou antígenos relacionados com determinada doença, ou outra amostra ou solução de composto biológico, e tem aplicação
20 em várias áreas da biotecnologia, incluindo a biomedicina.

Sumário da Invenção

A presente invenção relaciona-se com um sistema e processo para detecção e/ou identificação qualitativa e quantitativa de amostra ou solução aquosa de composto
25 biológico, como por exemplo sequências específicas de ácidos nucleicos presentes em amostras biológicas, que quando funcionalizado com nanopartículas de metal, muda a sua gama de absorção/emissão em função das reações química.

O processo de detecção e quantificação baseia-se na
30 resposta de um fotossensor, singular ou integrado, baseado

na tecnologia de filmes finos de silício amorfo, nanocristalino ou microcristalino, e suas ligas, e também nos novos cerâmicos semicondutores ativos, amorfos e não amorfos, capaz de detectar opticamente a luz absorvida/emitida.

Esta estrutura de fotossensor detecta e quantifica a variação de cor, associada a uma referência (sinal da fonte luminosa). Esta variação de cor é provocada pelas nanossondas de metal, sendo este preferencialmente o ouro, quando funcionalizadas com a amostra ou solução aquosa de composto biológico, como por exemplo oligonucleotídeos complementares às sequências específicas de ADN/ARN que se pretende pesquisar.

A resposta de detecção corresponde à diferença entre os valores de referência (feixe de luz diretamente sobre o sensor) e os valores após introdução do líquido biológico.

Este sinal analógico é devidamente condicionado pela eletrônica adequada e apresentado na forma analógica ou digital.

O sinal resultante, por escolha adequada do algoritmo de calibração e correção, é proporcional à concentração da amostra biológica funcionalizada com as sondas.

O referido sistema e processo de detecção e/ou identificação e quantificação resultante da análise molecular da amostra ou solução aquosa de composto biológico, têm aplicação na biotecnologia, incluindo a biomedicina, como por exemplo, na quantificação e detecção de sequências de ácidos nucleicos presentes numa amostra biológica.

Antecedentes da Invenção

Atualmente em muitas aplicações de diagnóstico clínico e laboratorial de amostras biológicas pretendem-se sistemas simples, de baixo custo e com a possibilidade de quantificar muito pequenas quantidades de uma forma rápida e fiável.

Entre estes, salienta-se o caso da identificação de ácidos nucleicos, ADN/ARN, e/ou proteínas, por exemplo anticorpos e/ou antígenos relacionados com determinada doença.

Os ácidos nucleicos constituem o material genético de qualquer organismo vivo, contendo informação específica que permite a sua completa caracterização. Portanto é possível identificar sequências características de cada ser vivo, permitindo obter informação relevante: identificação de sequências; identificação de mutações causadoras de doença; detecção de agentes patogênicos tais como bactérias e vírus etc [1].

A maioria das técnicas de caracterização de sequências de ADN/ARN baseiam-se na hibridação seletiva e específica de um pequeno oligonucleotideo (sonda) com a sequência de ADN complementar (alvo). Atualmente, os métodos de fluorescência ou radioativos são os mais utilizados para a detecção de sequências específicas por hibridação. Contudo, verifica-se que estas técnicas são de elevado custo e demasiado lentas [2,3]. Para além disso, as técnicas de hibridação necessitam de uma quantidade apreciável de matéria-alvo para se obter um sinal. Deste modo, normalmente só são passíveis de ser aplicadas após um processo de amplificação da amostra do ácido nucleico em questão, através de técnicas de reação da polimerase em

cadeia (Polimerase chain reaction - PCR). A PCR permite obter uma amplificação do número de cadeias de ácido nucleico disponível, mimetizando o que sucede na multiplicação das células de um organismo.

5 Novas técnicas de amplificação em *tempo real* (e.x. *Real-Time PCR*) oferecem um elevado nível de automação e diminuem o tempo necessário para amplificação e detecção. Com a utilização destas técnicas, é também possível obtenção de resultados quantitativos.

10 Porém, e apesar do elevado preço do equipamento e custo por teste associado, existe uma grande desvantagem nestas tecnologias que impossibilita um uso mais alargado nos laboratórios - o manuseamento das amostras, visto ser necessário amostras altamente purificadas, o que,
15 consequentemente, requer laboratórios e pessoal altamente especializado[4][5].

 Mais recentemente, os chips (microconjuntos de sensores integrados) de ADN têm ganho alguma popularidade. A sua maior aplicação tem sido em estudos de expressão
20 génica, onde os chips oferecem simultaneidade de análise de vários genes para uma única amostra. Basicamente esta técnica baseia-se em hibridação de um elevado número de amostras em simultâneo, recorrendo a quantidades mínimas de amostra.

25 Porém, o passo de amplificação continua a ser necessário. Adicionalmente, o conteúdo do chip é ainda um problema por resolver, sendo que esta é também uma tecnologia dispendiosa uma vez que estes chips não são reutilizáveis [6].

30 Têm sido desenvolvidos vários métodos colorimétricos

de detecção de ácidos nucleicos [7-10]. Alguns destes métodos baseiam-se nas propriedades óticas (ressonância plasmônica) de nanopartículas de ouro ou outros metais [11-12], função também da sua forma e tamanho.

5 Estas nanopartículas de ouro ou outro metal, tal como prata ou ligas prata-ouro, são extremamente sensíveis às alterações do meio, apresentando uma variação de cor, de vermelho para azul no caso do ouro. A variação de cor pode ser o resultado da aproximação de várias partículas, por
10 exemplo por ação de uma cadeia complementar de ADN.

A mudança de cor é uma resposta macroscópica que é oriunda dos fenômenos que ocorrem numa escala nanométrica, onde o ADN/ARN pode reagir de forma complementar ou não complementar. Para cada uma destas reações existe uma
15 resposta diferente de absorção da luz incidente.

Deste modo, a hibridação de sondas de ADN ou ARN ligadas a partículas de ouro para a identificação de sequências específicas é uma técnica de baixo custo e fácil de realizar, podendo vir a ser uma alternativa aos métodos
20 convencionais. Muito embora esta técnica baseada nas nanopartículas de ouro seja bastante simples e de baixo custo, é necessário fazer o registo da variação de cor. Para além disso, se o alvo apresentar apenas uma pequena desadaptação em relação à sonda, o desvio do pico máximo
25 (cor) só pode ser detectado recorrendo a aparelhagem com grande sensibilidade, com todas as limitações que tal implica (quantidade de líquido biológico e resolução a utilizar).

Por outro lado, para além da detecção do desvio em
30 relação ao pico, este tipo de técnica é incapaz de fornecer

informação quantificada, em termos de variação de intensidade, associada a uma dada cor ou desvio de cor.

Atualmente existem vários documentos que abordam técnicas relacionadas com esta área:

5 Assim, o documento US2006127931 refere-se a um processo de detecção da luz transmitida associado a várias nano-cavidades. Neste caso o forte confinamento da luz associado às regiões onde as nanopartículas se encontram localizadas é detectado pela medida da diminuição da luz
10 transmitida através de uma estrutura fotônica. Este processo é otimizado para a faixa de comprimentos de onda entre os 1450 e 1600 nanômetros. O processo de nano-cavidades e guia de onda não é considerado na presente invenção.

15 O documento DE102004015272 relaciona-se com biosensores que utilizam a tecnologia CMOS (*complementary metal-oxide-semiconductor*, isto é, semicondutor metal-óxido complementar) e pretendem determinar a presença de ADN que hibridize com moléculas alvo colocadas sobre o diodo
20 fotodetector. Deste modo não é possível a reutilização do sensor, nem é possível a quantificação do sinal, nem a determinação do desvio de cor. Isto é, não usa nanossondas de partículas metálicas no processo de detecção. As sondas/amostras de análise estão ligadas a um eletrodo que
25 gera um sinal elétrico. A estrutura é diferente, tendo sido feita a partir de tecnologia CMOS.

O documento US2005046847 relaciona-se com um método para iluminação ótica e detecção de ADN, considerado de baixo custo e rápida resposta. O sistema baseia-se no
30 varrimento de conjuntos integrados de sensores, baseados em

sistemas micro-eletromecânicos. Neste caso as fontes luminosas a utilizar são múltiplas e comutáveis entre si, podendo um mesmo bio-sensor ser iluminado por mais do que uma fonte de luz, ou uma fonte luminosa iluminar vários bio-sensores. Para além disso, utiliza filtros para discriminação de diferentes comprimentos de onda e/ou discriminação da polarização do feixe luminoso. Finalmente, pode ainda incorporar micro-lentes para focagem da luz incidente.

Contudo esta tecnologia não se aplica ao componente das nanopartículas e difere da presente invenção nos seguintes aspectos: as propriedades óticas da amostra em estudo têm de ser analisadas após iluminação ótica, portanto um pós-processamento/análise da amostra é necessário. Não está presente no método a aplicação de nanopartículas de metal/ouro. A estrutura é formada por duas matrizes, uma contendo as fontes de luz e a outra contendo os detectores, portanto é diferente da presente invenção.

O documento WO0075276 refere-se a um dispositivo para detecção de ADN baseado num sensor de arseneto de gálio. Neste caso a sonda de ADN é directamente absorvida na superfície duma camada superior do sensor, que é ou uma camada semicondutora degenerada condutora, ou uma camada isolante ou semi-isolante. A detecção é feita por hibridação do ADN com o sensor e controlada pela variação da corrente após aplicação de um campo elétrico ou vice-versa. O material e estrutura utilizados são também diferentes. Portanto, este sistema é completamente diferente do proposto pois baseia-se na mudança de

condutividade do meio.

O documento DE10142691 divulga um dispositivo para detecção de reações bioquímicas e medição destas através de transmissão luminosa efetuada através dos poros do substrato da reação. Esta invenção utiliza silício poroso e
5 detecção por iluminação e, por essa razão, difere substancialmente da invenção divulgada no presente documento.

O documento WO2004044549 divulga métodos e composições
10 para detecção, no qual um detector universal, contendo sondas, é incubado com moléculas marcadas. Este método recorre a marcadores mas não especifica o método de detecção utilizado (colorimétrico, impedância, etc.)

O documento EP0667398 descreve métodos e dispositivos
15 para detecção de sequências específicas de ADN sem ter de se recorrer a marcadores químicos de ADN, i.e. utilizando simplesmente técnicas de hibridação. A presente invenção difere do divulgado no referido documento em que não existe um método automático de detecção da hibridação, portanto
20 não existe nenhuma fonte de iluminação nem tão pouco um dispositivo de captação das reações que acontecem. A hibridação tem que ser registrada visualmente.

O documento DE10161529 descreve um bio-sensor para registo e identificação de moléculas de ADN, com
25 imobilização da amostra efetuada por uma cavidade revestida de ouro, que funciona como sonda, e que contém um fotodiodo. Por iluminação da mesma, os sinais óticos são detectados através de um fotodiodo. Esta invenção difere substancialmente da presente invenção proposta
30 especialmente no que diz respeito às sondas ligadas ao

detector e também no desenho da estrutura. Também a fonte de luz não pode iluminar diretamente a unidade de detecção, caso que é diferente à presente invenção.

O documento EP0248690 divulga métodos e dispositivos para a determinação de ácidos nucleicos virais em meios biológicos. Embora se refira à possibilidade de utilização de um método colorimétrico, é bem distinto da presente invenção pela sua estrutura e método de detecção.

O documento CN1661094 relaciona-se com um método de detecção de mutações genicas através da combinação de: amplificação de alelos específicos e nanossondas de ouro e métodos colorimétricos. Contudo, o processo descrito difere substancialmente do aqui apresentado em que não especifica o método de detecção da hibridação. A hibridação poderá ser registrada visualmente. Não existe nenhuma fonte de iluminação nem qualquer dispositivo de captação das reações que se deram.

O documento US2006014237 apresenta um sistema de detecção de agentes biológicos através da combinação de: diodos de emissão de luz para a exposição intermitente de amostras a radiação eletromagnética, sistema de circuitos para fornecer a exposição e fotodetectores para detectar as emissões fluorescentes resultantes da exposição à radiação. O sistema descrito difere do sistema aqui apresentado na medida em que não é usado para a detecção de ácidos nucleicos, não sendo portanto usado qualquer processo de hibridação ou amostras metálicas e os fotodetectores são usados para a detecção fluorescente.

O documento US2006028955 apresenta um analisador ótico para amostras biológicas, químicas e bioquímicas para medir

o nível de gordura e açúcar no sangue. O sistema utiliza diodos de laser e fotodetectores que permitem que o analisador realize análises de medição de absorvência. Este sistema difere do sistema apresentado no presente uma vez
5 não seu usado para a detecção de ácidos nucleicos, não utilizando por isso técnicas de hibridação nem nano-amostras metálicas.

Análises de amostras biológicas, como por exemplo no caso específico de ADN/ARN e proteínas, são utilizadas na
10 análise forense, nos mercados de diagnóstico clínico e laboratorial e em investigação. Atualmente estas técnicas são utilizadas para o diagnóstico de doenças infecto-contagiosas, embora diagnóstico de cancro e a genética (investigação) representam áreas relevantes de aplicação.
15 As principais indústrias que atualmente utilizam métodos de detecção de amostras biológicas, como por exemplo no caso específico de ADN/ARN e proteínas são:

- Organizações de Defesa -> questões ligadas à bio-segurança têm provocado o aumento na procura de soluções
20 fiáveis e rápidas para testes de ADN/ARN, especialmente nos Estados Unidos.

- Instituições Médicas -> são utilizados para diagnóstico médico, nomeadamente para o rastreio de doenças genéticas ou identificação de agentes patogênicos.

- 25 • Organizações de I&D -> Muitos testes moleculares são efetuados recorrendo à detecção de ADN para efeitos de investigação.

- Centros de saúde e laboratórios para rastreio e análise de doenças infecto-contagiosas.

- 30 • Organização Mundial da saúde

- Organizações Governamentais e Não Governamentais de apoio ao combate, detecção e erradicação de doenças patogênicas

Para além destas indústrias que atualmente já utilizam métodos de detecção de amostras biológicas, como por exemplo, no caso específico de ADN/ARN e proteínas, novos segmentos poderão também recorrer a estes testes, tais como:

- Indústria alimentar -> Para controlo de qualidade dos produtos, através de amostragem dos produtos e análises laboratoriais.

- Indústria farmacêutica, para testes de quantificação da ação medicamentosa.

- Indústria Veterinária/Agrícola -> Para detecção de agentes patogênicos, nomeadamente no caso da indústria agrícola, para a detecção de organismos geneticamente modificados.

Testes de amostras biológicas, como por exemplo, no caso específico de ADN/ARN e proteínas são já utilizados num campo variado de aplicações, porém devido aos custos associados e dificuldade de manuseamento das amostras o campo de aplicações está limitado.

A presente invenção tem como objetivo desenvolver um sistema simples e barato que permita "substituir" um qualquer aparelho de detecção (por exemplo, um espectrofotômetro convencional) por um fotodetector de elevada sensibilidade, numa banda larga de comprimentos de onda, que vão desde o infravermelho ao ultravioleta, capaz de fornecer uma informação qualitativa e quantitativa baseada na hibridação específica e seletiva de sondas

funcionalizadas com nanopartículas de ouro coloidal, ou qualquer outro metal, para detecção de amostras biológicas, como por exemplo, no caso específico de sequências específicas de ADN/ARN, de forma mais rápida e no mínimo
5 tão fiável como os métodos existentes.

Este novo método, combinando duas tecnologias, pode levar a reduções significativas de custos e tempo em análises de amostras biológicas, como por exemplo, no caso específico de ADN/ARN e, portanto, permitir que este tipo
10 de testes moleculares possa ser realizado em praticamente qualquer parte do mundo.

Para além disso, também é possível um versão auto-alimentada de todo o sistema de sensores, para uma rápida aplicação de teste do tipo Sim/não, associando o
15 fotodetector a um componente que funciona no modo fotovoltáico, apresentando uma característica de portabilidade ao sistema.

Descrição geral da invenção

A presente invenção diz respeito a um sistema
20 integrado, com a possibilidade de ser autoalimentado, para detecção e quantificação de amostras biológicas, como por exemplo, no caso específico de sequências específicas de ácidos nucleicos, até à ordem das dezenas dos fentomoles, recorrendo a nanossondas de metal, preferencialmente o
25 ouro.

O sistema de detecção baseia-se na resposta de um sensor ótico, singular e/ou integrado, a uma fonte luminosa monocromática controlável.

A fonte luminosa é constituída por lasers de estado
30 sólido de baixa energia (maior precisão na resposta), ou

diódos emissores de luz, orgânicos ou inorgânicos, cuja
faixa de comprimentos de onda cobre as regiões de espectro
de visível (400 a 800 nm), nomeadamente as cores de azul,
verde e vermelho. Neste último caso, a luz poderá ser
5 colimada e pulsada.

Em qualquer um dos casos, é possível ter uma "fonte de
alimentação de iluminação integrada", altamente precisa no
que toca à quantificação de dados, envolvendo aplicações
fixas.

10 A luz emitida pode ser focalizada sobre a amostra,
utilizando, ou não, para o efeito micro-lentes. No caso
concreto a dimensão do feixe de luz incidente, quando na
forma circular, terá -sempre dimensões inferiores - a 2 mm
de diâmetro, ou no caso da projecção de uma linha, a largura
15 da linha é inferior a 2 mm e o comprimento pode ir até 100
mm.

A intensidade da fonte luminosa é controlável entre
valores de 0,01 mW/cm² a 100 mW/cm².

A fonte luminosa pode, ou não ser, pulsada de forma a
20 eliminar o ruído associado com a luz ambiente. Neste caso a
frequência do sinal pulsado pode variar entre os 10 Hz e os
2000 Hz.

O fotossensor, singular ou integrado, baseia-se na
tecnologia de filmes finos de silício amorfo,
25 nanocristalino ou microcristalino e suas ligas, [14-17] bem
como em novos cerâmicos semicondutores ativos, amorfos e
não amorfos, tais como ligas de IGZO, IAgZO, SnZIO, GZIO,
CuOIZ, etc, capaz de detectar óticamente a luz
absorvida/emitada.

30 Este fotossensor detecta e quantifica a variação de

cor, associada a uma referência (sinal da fonte luminosa) provocada pela nanossonda funcionalizada com a amostra ou solução aquosa de composto biológico.

Os fotossensores a utilizar baseiam-se em dispositivos de estrutura do tipo pi'ii'n e/ou MIS, na forma singular ou integrada. [18-22]

Para os sensores singulares, estes detectam a luz transmitida (ou "emitida") através da amostra, gerando um sinal elétrico, corrente ou tensão, quantificável, que é função da intensidade da fonte luminosa utilizada, da concentração de composto biológico a analisar e da localização do pico de resposta espectral do sensor.

De forma a otimizar a relação sinal/ruído a corrente de saturação dos fotossensores deve ser a menor possível.

O sinal medido por estes fotossensores singulares, permite uma detecção qualitativa e quantitativa fiável. A quantificação fiável do método, requer a utilização de no mínimo dez sensores na mesma placa, de forma a determinar com rigor a janela de controlo fiável das medidas realizadas (informação estatística).

Os sensores singulares possuem as seguintes características funcionais:

a) responsividade - entre 10 a 10^8 , para níveis de iluminação entre $0,01 \text{ mW/cm}^2$ a 100 mW/cm^2 ;

b) relação sinal/ruído maiores que 3 dB , para níveis de iluminação superiores a $0,01 \text{ mW/cm}^2$;

c) tempos de resposta maiores que $50 \text{ } \mu\text{s}$;

d) correntes de saturação menores que 10^{-7} A/cm^2 ;

e) detectividade (unidade $\text{cmHz}^{1/2}/\text{W}$) maior que 10^{11} para o pico da resposta espectral;

f) possibilidade de deslocar o pico da resposta espectral numa banda da ordem dos 100 nm, por polarização adequada do sensor.

Neste sistema de sensores, o pico de resposta espectral é ajustado numa banda larga por selecção adequada (400 a 800 nm) da composição da camada fotossensível e numa banda mais estreita (100nm), por variação da polarização do sensor.

O substrato onde é depositado o sensor ou grupo de sensores é transparente para a faixa de comprimentos de onda de interesse, sendo micromaquinado na face contrária ao lado onde se efetuou o depósito do sensor.

A micromaquinação consiste na obtenção de cavidades de forma cónica com o diâmetro da base inferior a 3 mm e vértice centrado com o centro geométrico do sensor, de forma a que sirva de contentor da solução biológica. Deste modo, também se otimiza o acoplamento ótico da luz transmitida pela amostra ao sensor e reduz-se substancialmente a quantidade de composto biológico a utilizar por ensaio.

No caso de se utilizar mais do que um sensor singular de estrutura pi'ii' e/ou MIS, estes podem ser ligados, em série ou paralelo e o sinal elétrico resultante, corrente ou tensão, ligado à eletrónica de condicionamento, integrada com o sensor (ASIC *Application-Specific Integrated Circuit*, ou seja Circuito Integrado de Aplicação Específica) ou externa com o sensor.

Para além da utilização de estruturas singulares, podem ser utilizadas estruturas integradas, adaptadas para picos de resposta espectral diferentes até a um máximo de 4

e com eletrodos transparentes de saída diferenciados por camada ativa. Este tipo de estruturas permite controlar a informação associada a uma dada cor principal e determinar a sua variação incremental. Neste caso, é possível
5 organizar-se este tipo de estrutura em conjuntos lineares integrados, para fins de detecção múltipla e simultânea, o que, para além de aumentar a fiabilidade, aumenta igualmente o rigor dos dados quantificados. Isto é, as medidas efetuadas são relativas e não absolutas, sendo
10 portanto, independentes de toda e qualquer variação da fotocorrente (foto-tensão) devido a problemas de envelhecimento ou degradação do sensor.

No caso do sensor integrado, este é constituído, ou por conjuntos de nanossensores diferentes dispostos na
15 forma linear ou matricial, ou colocados em duas placas distintas, sobrepostas e deslocadas, ou então, produzidas na mesma placa, na forma de multicamada. Como sensor integrado engloba-se a possibilidade, ou não, de ter incorporado a eletrônica adequada para o condicionamento de
20 sinal.

Em cada uma das placas o pico de resposta do fotossensor está otimizado de modo a produzir uma resposta máxima para a amostra funcionalizada em questão e respectiva fonte luminosa. Deste modo diminui-se o erro do
25 processo de quantificação.

A banda de resposta de cada um dos sensores, associado a um comprimento de onda específico, e integrados em cada uma das placas, é tal que, a intensidade do sinal associada ao pico de um deles seja pelo menos 10 vezes superior ao
30 sinal detectado pelo outro detector.

Os sensores integrados podem estar dispostos na forma linear ou matricial, ocupando cada um dos sensores uma área mínima, que pode ser de $0,3 \text{ mm}^2$, e separados entre si do dobro da distância do feixe ótico incidente.

5 Os sensores integrados podem estar dispostos em multicamada. Neste caso, o sensor frontal (virado para a amostra) possui um hiato energético e espessuras superior ao da camada fotossensível do segundo sensor.

Os sensores integrados possuem as mesmas
10 características funcionais que os sensores singulares.

Quer se tratem de sensores singulares ou integrados, por polarização adequada é possível deslocar o pico de absorção, de forma a que se obtenha uma resposta máxima para o ensaio em questão (diferença entre a o sinal da
15 fonte luminosa e o sinal detectado pela amostra funcionalizada).

Como fotossensor utilizam-se dispositivos baseados em estruturas do tipo pi'ii'n, MIS e outras similares, de elevada responsividade na região de comprimentos de onda
20 entre os 400 nm e os 800 nm, nas quais as letras p e n se referem aos contatos injetores/detectores de carga; a letra i' à camada intrínseca à base de uma liga contendo silício, e outro material, tal como carbono; i à camada fotossensível de resposta espectral regulável, em função da
25 sua composição. Para o caso de estruturas MIS, M refere-se a um contato do tipo metal, I refere-se a uma nanocamada constituída por um elemento dielétrico, com propriedades altamente isolantes, e S à camada fotossensível de pico de absorção regulável, em função da sua composição.

30 Os sensores acima mencionados, utilizam como

semicondutor ativo o silício e suas ligas, nas formas amorfa, nanocristalina ou microcristalina, bem como óxidos iônicos, tais como IZO, ZGO, IGZO, IEgZO, SnZIO, GZIO, CuOIZ, GISnO a funcionar quer como contatos elétricos
5 altamente condutores e transparentes, [23-25] bem como elemento ativo a integrar chaves de comutação (transistores de filme fino), [26-28] em estruturas integradas de multicamada e/ou microconjuntos lineares.

O processo de produção dos materiais acima descritos
10 baseia-se em técnicas químicas, físicas ou físico-químicas, tais como deposição química de vapores, assistida por plasma de rádio, frequência ou ultra alta-frequência (PECVD *Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition*); deposição química de vapores assistida por filamento aquecido (HW-CVD
15 *Hot-Wire Chemical Vapor Deposition*); deposição química de vapores assistida por luz ultra violeta ou sinal de microondas; pulverização catódica assistida ou não por campo magnético, em corrente contínua ou rádio frequência; sol-gel; técnicas por imersão; pirólise atomizada;
20 crescimento epitaxial atômico; evaporação térmica assistida por filamento aquecido ou canhão de elétrons; crescimento eletroquímico, jato de tinta.

As temperaturas de processo a utilizar variam entre os 20°C e os 400°C, função da funcionalidade e as
25 características elétricas pretendidas para o desempenho do sensor, simples ou na forma integrada (daqui para diante, sempre indicado pela palavra sensor).

Em conformidade com o descrito anteriormente, os sensores podem ser produzidos em qualquer tipo de
30 substrato, desde o substrato celulósico (papel), substrato

polimérico (plástico); substrato vítreo; substrato cerâmico e substrato metálico, tendo as dimensões máximas de 10 x 10 cm.

5 A extração do sinal destes sensores faz-se recorrendo a películas metálicas de elevada condutividade, como o Cr ou Ag, ou películas de óxidos transparentes de elevada condutividade, de estrutura cristalina ou amorfa, tais como o ZGO ou IZO.

10 Nos sensores de estrutura $pi'ii'n$, o contato p deve ser suficientemente condutor e ter um hiato energético que permita fazer a adaptação adequada à do semiconductor que se lhe segue. Para além disso, deve ter uma espessura que permita, objetivamente controlar a resposta espectral na faixa dos 400 nm. Por outro lado, o contato dopado n, deve
15 possuir desempenhos similares aos anteriormente enunciados para o contato do tipo p, mas agora, controlar a resposta espectral na faixa dos infravermelhos (à volta dos 800 nm).

Nos sensores de estrutura $pi'ii'n$, a camada I' deve ser à base de uma liga (exemplo: silício-carbono, se se
20 pretender otimizar a resposta em direção à região do azul ou silício-germânio, se se pretender otimizar o pico de resposta em direção à região do infravermelho próximo). A sua espessura deve ser tal, de forma a permitir controlar a largura da banda de absorção.

25 Nos sensores de estrutura $pi'ii'n$, a camada i deve ser à base silício nano-estruturado, cujo controlo do hiato se faz, ou por maior inclusão de hidrogénio ou por adição de pequenos aditivos ao processo de deposição, como sejam metano ou germana. Nestas condições, será possível
30 controlar a localização do pico da resposta espectral. A

espessura da camada deve, nestas condições, exceder sempre a da anterior.

Nos sensores de estrutura pi'ii'n, a segunda camada i' deve ser à base de uma liga (exemplo: silício-carbono, se 5 pretender otimizar a resposta em direção à região do azul ou silício-germânio, se se pretender otimizar o pico de resposta em direção à região do infravermelho próximo). A sua espessura deve ser tal, de forma a permitir controlar a largura da banda de absorção, mas sempre inferior à da 10 precedente. Deste modo, será possível ter-se estruturas com uma banda de resposta larga ou estreita. Por outro, o acerto fino da posição do pico far-se-á à custa da polarização da estrutura (direta ou inversa).

Nos sensores de estrutura pi'ii'n, a espessura total 15 da estrutura produzida pode ser tão fina quanto 0,3 micrometros ou tão espessa quanto 30 micrometros, função do tipo de material usado. Isto é, se é amorfo ou microcristalino.

Nos sensores de estrutura MIS, a camada M deve ser à 20 base de um metal altamente condutor e de elevada função de trabalho (exemplo: ouro ou platina) e suficientemente fino, de forma a permitir o seu atravessamento pelo feixe luminoso incidente (tipicamente, espessuras da ordem dos nanometros) e ao mesmo tempo garantir o efeito retificante 25 desejado.

Nos sensores de estrutura MIS, a camada I deve ser à base de um material dielétrico de elevada compacticidade e elevada resistividade, simples ou em multicamada (por exemplo, dióxido de silício ou dióxido de tântalo; 30 alumina/óxido de titânio) e suficientemente fino para

permitir o processo de transporte por tunelamento.

Nos sensores de estrutura MIS, a camada S deve ser à base de uma liga semicondutora ou não (exemplo: silício-carbono, se pretender otimizar a resposta em direção à região do azul ou silício-germânio, se se pretender otimizar o pico de resposta em direção à região do infravermelho próximo), que permita fazer uma película gradual ou abrupta, em termos de hiato energético, entre as duas camadas em que vai ficar compreendida (a camada I e o contato do eletrodo). A espessura do semicondutor deve ser tal, de forma a permitir controlar a largura da banda de absorção. Deste modo, será possível ter-se estruturas com uma banda de resposta larga ou estreita. Por outro, o acerto fino da posição do pico far-se-á à custa da polarização da estrutura (direta ou inversa).

Em termos de sensores de multicamada, estes poderão ainda conter uma camada pin estruturada e integrada que funciona como dispositivo fotovoltaico capaz de auto-alimentar o sistema. A sua integração (número de células interligadas em série e sua dimensão) é feita de acordo com as especificações da polarização pretendidas, altamente relevante em sistemas portáteis.

Qualquer das estruturas anteriormente referidas é passível de ser encapsulada, por laminação ou não.

O sinal elétrico (corrente ou tensão) é acondicionado de forma a que os resultados mostrados apareçam na forma analógica ou digital tal como anteriormente descrito para o caso dos sensores singulares.

Para qualquer dos casos anteriormente referidos, os sensores produzidos possuem uma variação monotônica da

corrente (ou tensão), capaz de ser integralmente traduzida por uma função polinomial até ao grau 4 e ser linearizável (ou representadas por uma função de grau x , em que x varia entre 1 e 0,5) por faixas e de comprimento de onda bem definidos.

Para qualquer dos casos anteriormente referenciados, a detecção pode ser feita em corrente contínua ou alterna.

No primeiro caso é necessário ter-se em conta o sinal de referência, resultante do meio ambiente, enquanto no segundo caso, tal não é necessário.

A presente invenção relaciona-se com um sistema e processo para detecção e/ou identificação qualitativa e quantitativa de amostra ou solução aquosa de composto biológico que quando funcionalizado com nanopartículas de metal (por exemplo sequências específicas de ácidos nucleicos presentes em amostras biológicas), muda a sua gama de absorção/emissão em função das reações químicas.

Isto é, existe uma mudança de cor que é uma resposta macroscópica de fenômenos que ocorrem numa escala nanométrica. Para cada uma destas reações existe uma resposta diferente de absorção/emissão da luz incidente.

A sonda é formada por nanopartículas de metal, sendo este preferencialmente o ouro, ligadas, por exemplo a uma sequência de ADN/ARN conhecida de acordo com o estado da técnica [9,11,13], de diâmetro entre os 5 e os 30 nanómetros exibindo uma coloração em função da composição, geometria e dimensão do metal. No caso de nanopartículas de ouro, a coloração será avermelhada. Neste caso, o pico de absorção situa-se entre os 500 e os 550 nanómetros, em virtude da plasmônica de ressonância na superfície. Para

outras colorações, resultantes da utilização de outros metais que não o ouro, o pico de absorção deslocar-se-á para outros comprimentos de onda, sendo a faixa de comprimentos de onda possíveis de discriminar a região que vai dos 400 nm aos 800 nm, envolvendo larguras de banda, que podem ser de cerca de 50 nm, para cada um dos casos específicos.

O mecanismo de detecção baseia-se na propriedade ótica destas amostras funcionalizadas, uma vez que o pico de absorção altera como função da proximidade entre partículas, mediada, por exemplo pelas sequências de ADN/ARN, após variação das forças iônicas do meio em que as nanopartículas estão contidas.

Assim, quando se preparam várias amostras biológicas contendo sondas de nanopartículas de ouro e ADN/ARN, após a adição de um sal, é possível observar os resultados, traduzidos por uma mudança de cor, no caso de resultado negativo ou com a cor a manter-se no caso de resultado positivo.

A mudança de cor é uma resposta macroscópica que é oriunda dos fenômenos que ocorrem numa escala nanométrica, onde o ADN/ARN pode reagir de forma complementar ou não complementar. Para cada uma destas reações existe uma resposta diferente correspondente de absorção da luz incidente.

O espectro de absorção da amostra formada pela sonda de nanopartículas de ouro e as soluções aquosas de composto biológico, como por exemplo ADN/ARN teste e sal, apresenta dois máximos de absorção com um comportamento de função gaussiana centrado, cujo pico se encontra entre os 510 e os

540 nanometros, que representa a interação entre a sonda e ADN/ARN de forma complementar (positivo), ou centrado entre os 615 e os 645 nanometros, que representa as reações não complementares (negativo).

5 Assim sendo, a cor da fonte luminosa monocromática a utilizar no ensaio deve ser selecionada de acordo com a amostra biológica e sensores funcionalizados, de uma forma complementar. No caso de uma amostra de coloração avermelhada (pico de resposta espectral aproximadamente nos
10 630 nm), tem-se um elevado nível de absorção na região espectral associada ao verde, 525 nm. Portanto, a fonte luminosa deve ser selecionada para a região do verde.

A resposta de detecção corresponde à diferença entre os valores de referência (feixe de luz diretamente sobre o
15 sensor) e os valores após introdução do líquido biológico. Este sinal analógico é devidamente processado pela eletrônica adequada e apresentado na forma analógica ou digital.

O acondicionamento eletrônico da resposta do sinal
20 compreende a utilização de um circuito comparador, que permite fazer a diferença entre o sinal de referência e o sinal de resposta resultante da passagem do feixe pelo composto biológico funcionalizado com as nanossondas. O sinal ótico de excitação pode ser contínuo (dc) ou pulsado
25 (ac), passa para um filtro elétrico de banda estreita, ou passa banda, sendo posteriormente o sinal analógico elétrico amplificado e/ou convertido noutra forma de sinal analógico ou na forma digital, de acordo com a forma como se pretende processar e mostrar o resultado final.

30 O sistema de detecção é baseado num fotossensor que

mede a diferença de intensidade de um feixe de radiação monocromática, depois de passar através de uma amostra líquida biológica, por exemplo um ADN misturado com a nanossonda num intervalo de temperaturas entre os 5 e os 45°C.

O sinal resultante, por escolha adequada do algoritmo de calibração e correção, é proporcional à concentração da amostra biológica.

Para qualquer um dos casos anteriormente referidos, filtros de passa banda serão utilizados ou incorporados, sempre que se pretenda utilizar o sensor em meios de luminosidade não controlada e se se pretender otimizar a resolução mínima dos fotossensores, em termos quantitativos, especialmente quando são usados sinais de excitação de luz contínuos. Neste caso concreto, os filtros serão adequados à fonte luminosa utilizada.

Para qualquer dos casos anteriores, o sinal elétrico do ou dos fotossensores, é possível de ser endereçado via uma matriz de transistores de filme fino baseados em óxidos semicondutores iônicos e eventualmente armazenados num registo de deslocamento.

Para qualquer dos casos anteriormente referidos, o sinal elétrico recebido pelo sensor pode ser comparado, subtraído, ampliado ou filtrado por eletrônica externa ao sensor ou nele integrado. Neste último caso, circuito comparadores e portas lógicas à base de óxidos iônicos transparentes serão utilizadas, no condicionamento do sinal e sua conversão A/D.

Assim, o sistema de detecção desenvolvido baseia-se num fotossensor que mede a diferença de intensidade de um

feixe de radiação monocromática, quando a amostra de líquido biológico, por exemplo amostra de teste de ADN, é misturada com a sonda num intervalo de temperaturas entre os 5 e os 45°C.

5 Por sua vez, o fotossensor encontra-se ligado a um amplificador síncrono, ou integrado com uma chave de comutação (transistor de filme fino) e um circuito comparador e amplificador de filme fino que permite(m) obter os resultados dos ensaios, de forma singular ou
10 sequencial, quer se trate de um sistema discreto ou integrado (conjunto linear de sensores apostos, com o pico de resposta espectral desviado, de acordo com a faixa de comprimentos de onda a analisar), em termos qualitativos e/ou quantitativos. Deve-se também realçar o fato da medida
15 realizada ser relativa e portanto, não dependente de qualquer eventual degradação do sensor, ao longo do tempo. Tal faz com que a fiabilidade dos dados seja maior.

A intensidade do feixe de luz que chega ao sensor, nesta região de comprimentos de onda, é variável em função
20 das interações com a amostra, devido ao pico máximo de absorção do líquido ser igual ou próximo do do feixe, devido à presença das nanopartículas de ouro.

O líquido biológico é colocado na face do fotossensor contrária ao lado onde se efetuou o depósito do sensor, conferindo a vantagem de o líquido não estar em contato
25 direto com o sensor, mas sim com a face livre do substrato. Este fato permite a reutilização do fotossensor, implicando um menor custo na utilização do sistema. Por outro lado, a área de contato das nanossondas funcionalizadas com o
30 sensor é grande o suficiente de modo a permitir um maior

rigor dos resultados, de um modo qualitativo e quantitativo, sem a necessidade de grandes quantidades de ensaios.

Estes sensores permitem detectar a mudança de cor, associada a um processo químico, gerando um sinal elétrico quantificado, como função de:

- Comprimento de onda da luz emitida/absorvida pelo meio;

- Desvio do pico de absorção, em função do sinal de referência;

- Intensidade do sinal emitido/absorvido, função do número de fentomoles possíveis de detectar;

- Desvio de intensidade do sinal elétrico detectável (corrente ou tensão) por mais de um sensor, dispostos em multicamada ou integrados em conjuntos lineares mas com pico de absorção deslocados. Neste caso, uma das estruturas apresenta uma resposta espectral de espectro amplo e a outra (ou outras), uma resposta espectral de banda estreita, função do conjunto de níveis de detecção a discriminar;

- Frequência de resposta, como uma função da polarização aplicada ao sensor;

- Pico da intensidade da resposta do sensor, controlável, como função da tensão de polarização aplicada.

Com este detector pretende-se obter:

- aumento da sensibilidade (fentomol de alvo);

- reduzir a quantidade de líquido biológico (amostra);

- capacidade de miniaturização;

- reutilização do sistema (a detecção é feita na parte posterior do fotodetector, não havendo um contato direto

entre a solução biológica e o material semiconductor), o que é uma enorme vantagem em relação a todos os sistemas de hibridação em meio heterogêneo - chips, microconjuntos de sensores integrados, membranas;

5 - poder ter-se uma versão do sistema portátil e autoalimentada, para testes rápidos, do tipo SIM/NÃO (o fotodetector associa em si uma componente de funcionamento no modo fotovoltaico, caso se verifique que o tempo de resposta para a aplicação em causa é suficiente);

10 - sistema autoalimentado (integração sensor/sistema fotovoltaico);

- capacidade de reutilização;

- baixo custo.

Descrição das figuras

15 **Figura 1** - representa uma configuração possível do sistema de detecção e identificação de sequências de nucleótidos desenvolvido - integração do processo químico com o fotossensor.

A - Sistema de detecção;

20 B - Mecanismo de detecção

Na parte superior do sistema de detecção, está montada uma fonte luminosa de radiação monocromática (1), por exemplo um laser, que é pulsado mecanicamente com o auxílio de um "chopper" (2), de forma a reduzir ruído e efeitos da luz ambiente. O fotossensor é colocado na parte inferior da estrutura (3) onde é colocada a gota com o líquido biológico (5). O fotossensor (6 e 7) encontra-se ligado a um amplificador síncrono (4), que permite obter os resultados dos ensaios. O líquido biológico (5), sonda e
30 amostra a testar, tal como por exemplo as sequências

específicas de ADN/ARN, proteínas, são colocados na superfície do fotossensor (6). Esta configuração tem a vantagem de o líquido não estar em contato direto com o sensor, mas sim com o substrato vítreo, o que permite a reutilização do fotossensor. O número (7) corresponde à estrutura (camadas) de que é constituído o sensor.

Figura 2 - representa a estrutura das camadas, dos dispositivos apresentados como fotossensores na figura 1, com os números 6 e 7.

10 Como fotossensor utilizaram-se dispositivos baseados em estruturas do tipo pi'ii'n, (Figura 2a) e MIS (Figura 2b).

Na figura 2a) as letras p e n, associadas respectivamente aos números 9 e 13, referem-se aos contatos injetores/detectores de carga; os números 10 e 12 correspondem à letra i' e referem-se à camada intrínseca obtida à base de uma liga; i refere-se às camadas intrínsecas obtidas a partir da liga; 11 corresponde à letra i, e refere-se à camada foto sensível de resposta espectral regulável, em função da sua composição.

20 As camadas 8, 14 e 15 correspondem aos contatos do fotossensor.

Na figura 2b nas estruturas MIS, 16 refere-se a M que se refere a um contato do tipo metal, 17 corresponde a I que se refere a uma nanocamada constituída por um elemento dielétrico, com propriedades altamente isolantes e 18 corresponde a S que se refere à camada fotossensível de pico de absorção regulável, em função da sua composição.

Figura 3 - representa um esquema possível do circuito elétrico simples para obtenção e processamento do sinal

proveniente do fotossensor, que substitui os componentes eletrônicos externos mostrados na figura 1 com o número 4.

Assim um sensor (6, 7) encontra-se ligado a uma fonte de tensão (19) para proceder à sua polarização. Esta fonte
5 será comandada por um microcontrolador (24) visto que a polarização do sensor depende da análise a ser efetuada.

À saída do sensor existe um filtro (20) que permite reduzir o ruído (luz ambiente) e otimizar a resolução mínima para obtenção de resultados quantitativos. De
10 seguida o sinal elétrico é amplificado, num circuito amplificador (21) e comparado no circuito comparador (22) com um sinal de referência (23)- resposta qualitativa, sendo também este sinal controlado por o microcontrolador (24), sendo posteriormente enviado para o microprocessador
15 para armazenamento dos dados, processamento extra e conversão A/D.

De notar que, no caso de se ter um circuito composto por um conjunto linear integrado de sensores, existirá um circuito de condução, composto de uma chave de comutação
20 (fino transistor de películas), e estando diretamente integrado com o sensor. Para além disso, o circuito comparador e amplificador do resultado, podem já estar integrados com este.

Figura 4 - representa a estrutura do dispositivo de
25 uma forma integrada, onde (6) represente o substrato, tal como na figura 1; (25) a eletrônica (chave de comutação) à base de óxidos iônicos transparentes para realizar o processamento do sinal, como exemplificado pela figura 3; (26) uma estrutura isolante; (27) contato anterior; (28)
30 fotossensor com a estrutura exemplificada na figura 2; (29)

contato posterior transparente;

Descrição Detalhada da Invenção

Como referido anteriormente os componentes principais do sistema são uma fonte luminosa monocromática, o
5 fotossensor descrito e eletrônica adequada para processamento e obtenção dos resultados.

De seguida é feita uma descrição detalhada de uma possível configuração da presente invenção, visto que este pode ter várias configurações dependendo de vários fatores,
10 tais como o tipo de fonte luminosa (diodos emissores de laser ou luz), tipo de eletrônica utilizada para o processamento de sinal, tipo de fotossensor utilizado (singular ou integrado), etc.

Um fotossensor de silicone único (6 e 7a) é utilizado
15 com uma estrutura pi'ii'n, depositado num substrato vítreo, no qual a resposta espectral máxima pode ser regulada numa gama alargada de espectros visíveis tais como 530 nm.

A fonte luminosa (1) é um laser monocromático de
20 comprimento de onda próximo ao selecionado em cima, tais como 532nm (luz verde) e alimentado em 5 mW, colocado de modo perpendicular ao fotossensor (6 e 7a), anteriormente descrito com uma estrutura do tipo pi'ii'n, de modo a que os pontos da luz incidente atinjam exatamente no centro
25 geométrico do fotossensor (6 e 7a), reduzindo desta forma a quantidade de luz refletida quando esta incide no líquido biológico (5). A distância é variável, como função da potência da fonte luminosa (1), entre os 5cm e os 30 cm, de preferência sendo de 15 cm.

30 O comprimento de onda da fonte luminosa (1), por

exemplo 532nm, corresponde ao pico de resposta espectral otimizada do fotossensor e é escolhido de uma forma complementar, de acordo com as nanossondas utilizadas, tal como referido anteriormente.

5 Pode-se recorrer a sistemas de guiamento da luz, como por exemplo fibras óticas, ou lentes, para otimizar a quantidade de luz incidente sobre a amostra.

 A fonte luminosa (1), como referido anteriormente é pulsada a uma frequência de por exemplo 130 Hz, de forma a
10 eliminar o ruído associado à luz ambiente, podendo-se utilizar fontes luminosas (1) contínuas e recorrer a formas de pulsar (2) elétricas ou mecânicas deste feixe de luz monocromática incidente, por aparelhos externos (por exemplo um "chopper", para pulsar mecanicamente o sinal).

15 Ainda, de forma a reduzir os efeitos da luz ambiente, pode-se ou não utilizar filtros óticos (20) que sejam devidamente afinados para a fonte luminosa (1) (por exemplo, laser monocromático de comprimento de onda de 532 nm) a ser utilizada no ensaio.

20 O fotossensor (6 e 7) é depositado na parte inferior da estrutura (3) e pode estar otimizado para a fonte luminosa (1) selecionada para o teste a ser realizado. Se for necessária a alteração do pico da resposta espectral do fotossensor (6 e 7) para outra gama, então podem ser usadas
25 fontes de tensão (19) para proceder à sua polarização do mesmo e deste modo, deslocar o pico de resposta espectral do fotossensor (6 e 7) para a gama desejada.

 Esta fonte de tensão (19) pode ser comandada por um microcontrolador, uma vez que a polarização do sensor (6,
30 7) depende da análise a ser efetuada, ou regulável

manualmente.

O líquido biológico (5) é colocado na face do fotossensor contrária ao lado onde se efetuou o depósito do sensor (estrutura pi'ii'n descrita anteriormente), conferindo a vantagem do líquido não estar em contato direto com o sensor, mas sim com a face do substrato. Este fato permite a reutilização do fotossensor, implicando um menor custo na utilização do sistema. Por outro lado, a área de contato é grande o suficiente para permitir maior rigor dos resultados, qualitativos e quantitativos, não sendo necessária portanto uma grande quantidade de amostras, permitindo também uma redução de custos associados à amostra.

A fonte de luz, que se encontra localizada perpendicularmente ao sensor, emitirá uma radiação que passa através do líquido biológico (5) colocado na parte traseira da superfície do substrato que contém o fotossensor.

A luz não absorvida pela descida do líquido biológico (5) passa através de substrato vítreo (6) e é absorvida pelo fotossensor que converte o sinal de luz numa fotocorrente e/ou numa fotovoltagem (sinal elétrico).

O sinal elétrico adquirido pelo fotossensor (6 e 7) é comparado, subtraído, amplificado ou filtrado por circuitos eletrônicos externos ao sensor, usando amplificadores sincronizados (4) regulados para a mesma frequência que a fonte de luz (1), obtendo-se assim os resultados do sinal elétrico gerado pelo fotossensor (6 e 7).

A resposta de detecção (R_{DET}) é medida como uma função de variação de corrente ou voltagem do dispositivo,

específica para cada comprimento de onda e intensidade de luz utilizados, sendo a diferença entre os valores de referência, ou seja, o valor da leitura do feixe de luz projetado diretamente no sensor (R_{REF}) e o valor da leitura após ter colocado o líquido biológico no sensor (R_{ADN}).

$$R_{DET} = R_{REF} - R_{ADN}$$

1. Produção e preparação da amostra:

No sistema pode-se utilizar variados tipos de composto biológico, e salienta-se portanto o caso da identificação de ácidos nucleicos (ADN/ARN).

A amostra ADN/ARN é extraída a partir de sangue, saliva, etc., recorrendo para tal aos kits (estojos) existentes para o efeito. De seguida a amostra é purificada, podendo ou não ser necessário um passo de amplificação. No caso de ARN não é necessário o passo de amplificação.

2. Preparação das soluções contendo sondas de nanopartículas

O ADN/ARN purificado é então misturado com as sondas de nanopartículas, em que as nanopartículas são formadas por ouro ou outros metais, de acordo com o seguinte processo:

O ADN/ARN, juntamente com a sonda de nanopartículas de ouro, é submetido por 10 minutos a 95°C de forma a desnaturar a cadeia dupla e/ou estruturas secundárias do ADN/ARN. Em seguida, deixa-se arrefecer a amostra à temperatura ambiente por 30 minutos permitindo que o ADN/ARN desnaturado hibridize especificamente com a sonda de nanopartículas de ouro.

Adiciona-se então um eletrólito (i.e. NaCl) até uma

concentração final de 2M.

Após 15 minutos à temperatura ambiente (entre os 5 e os 45°C) é possível observar os resultados em função da alteração colorimétrica.

5 3. Obtenção dos resultados

Em seguida, o líquido biológico, contendo as amostras de ácidos nucleicos a detectar ou identificar juntamente com a respectiva sonda de nanopartículas de ouro, é colocado no fotossensor, sendo então o resultado revelado.

10 Assim, quando se preparam várias soluções contendo sondas de nanopartículas de ouro e ADN/ARN teste, após a adição de um sal é possível observar os resultados, traduzidos por uma mudança de cor, no caso negativo ou, com a cor a manter-se no caso positivo, que é traduzido pelo
15 fotossensor com diferentes sinais elétricos. Isto corresponde a dois comportamentos lineares diferentes dos fotossensores, respectivamente para a alteração de cor (associada ao comprimento de onda) e alteração de intensidades de luz da "luz emitida" pelas nanossondas.

20 Exemplo

De acordo com o descrito anteriormente na descrição detalhada escolheu-se como configuração para este exemplo a apresentada na figura 1.

Utilizou-se um fotossensor singular de silício amorfo,
25 depositado num substrato vítreo (6); a fonte de luz (1) escolhida foi um laser de estado sólido com um comprimento de onda nos 530 nm, que está associado ao máximo da resposta espectral do fotossensor [29].

A fonte luminosa (1) é mecanicamente pulsada a uma
30 frequência de 130 Hz e a foto-tensão gerada pelo

fotossensor é medida com o auxílio de um amplificador síncrono (4), utilizando a frequência de pulsação do laser como referência.

A luz não absorvida "emitida" passa através do substrato vítreo (6) e é absorvida pelo fotossensor, que converte o sinal em uma fotocorrente e foto-tensão.

Visto que o fotossensor funciona no modo fotovoltaico, não é necessária qualquer fonte de alimentação para o mesmo. A luz emitida pelo laser funciona simultaneamente para inferir a variação na absorção do líquido biológico, bem como para ativar o fotossensor.

A resposta de detecção (R_{DET}) foi medida em função da variação da corrente do dispositivo, sendo a diferença entre os valores de referência (R_{REF}), ou seja, o valor diferencial entre a leitura do feixe de luz diretamente projetado no sensor (R_{REF}) e o valor da leitura após a introdução do líquido biológico no sensor (R_{ADN}).

$$R_{DET} = R_{REF} - R_{ADN}$$

Embora os valores dos parâmetros R_{ADN} , R_{REF} tenham sido lidos em modo de fotocorrente, os resultados obtidos têm unidades de tensão, devido à conversão feita pelo amplificador síncrono (4).

Os resultados apresentados têm um comportamento bastante linear em função da concentração das sondas, tendo sido possível fazer uma aproximação dos resultados utilizando a equação da reta, que apresentou um fator de correlação de 0.97.

$$Y(x) = -0,74 + 0,72x$$

Este fato satisfaz a lei Lambert-Beer, onde o aumento da concentração das sondas traduz um aumento da absorção da

luz incidente, fato que maximiza a diferença de valores entre R_{ADN} e R_{REF} .

O sistema proposto foi eficazmente ampliado para detecção DNA. A amostra foi designada para ser complementar a uma região genômica específica de uma subunidade β de polimerase RNA de *Mycobacterium tuberculosis* (agente da tuberculose). Os resultados foram obtidos através de medição das respostas do sensor a alterações de cores de ADN não complementar de solução em branco e ADN complementar.

Neste teste, usaram-se quatro soluções, mantendo-se a concentração de nanosonda Au constante a 2,5 nM, nomeadamente: solução de tampão (solução 1), que é um sal utilizado para impedir grandes variações no PH da solução; amostra com ADN não complementar (solução 2); amostras com ADN complementar da M.tuberculose (soluções 3 e 4).

Os resultados mostram que todos os líquidos colocados absorvem a radiação incidente. Isto deve-se ao fato de o fotossensor utilizado cobrir toda a região do espectro visível, tendo o seu pico otimizado para a região do verde, portanto apesar da mudança de cor implicar uma diferença da absorção do composto biológico, o fotossensor continuará a obter um sinal. Entretanto, o tampão e o ADN não complementar absorvem muito menos radiação da fonte luminosa, permitindo uma diferença na leitura quando comparados com o ADN complementar.

A diferença nas leituras entre as soluções 3 e 4 é também prova de que o sistema permite a quantificação das amostras, de acordo com a selecção adequada de um algoritmo de calibragem.

Em termos do líquido que forma uma gota na superfície do sensor, a influência do efeito de gotejamento existe. Este fenómeno físico deve-se tanto à diferença de índice refratário entre o líquido e o ar, como à geometria da gota (convexa) que atua como lente.

Não obstante o mencionado, a diferença detectada entre os valores medidos para o ADM complementar e não complementar é significativa. Este resultado mostra a viabilidade do método utilizado, pois apresenta uma sensibilidade muito grande aos valores registrados, permitindo desta forma a detecção do vírus de ADN da M. tuberculose, tal como mencionado no exemplo em cima.

Bibliografia

[1] Videira, Arnaldo, Engenharia Genética - Princípios e Aplicações. LIDEL (2001)

[2] Kirk, B. W., Feinsod, M., Favis, R., Kliman, R.M. & Barany, F., Single nucleotide polymorphism seeking long term association with complex disease. Nucleic Acids Res. 30, 3295-3311 (2002)

[3] Whelen, A.C. & Persing, D.H., The role of nucleic acid amplification and detection in the clinical microbiology laboratory, Annu. Rev. Microbiol. 50, 349-373 (1996)

[4] Bernard, P.S. & Wittwer, C.T., Real-Time PCR technology for cancer diagnostics. Clin. Chem. 48, 1178-1185 (2002)

[5] Mackay, I.M., Arden, K.E. & Nitsche, A., Real-time PCR in virology. Nucleic Acids Res. 30, 1292-1305 (2002)

[6] Siitari, Harry. Nucleic acid diagnostics market -

Unmet needs and product potential. National Technology Agency, Technology Review 125/2002, Helsinki (2002)

[7] Storhoff, J.J., Lucas, A.D., Garimella, V., Bao, Y.P., Muller, U.R., Homogeneous detection of unamplified
5 genomic DNA sequences based on colorimetric scatter of gold nanoparticle probes. Nat. Biotechnol. 22, 883-887 (2004)

[8] Storhoff, J.J., Marla, S.S., Bao, Y.P., Hagenow, S., Mehta, H., Lucas, A.D., Garimella, V., Patno, T., Buckingham, W., Cork, W., Muller, U.R., Gold nanoparticle-
10 based detection of genomic DNA targets on microarrays using a novel optical detection system. Biosensors and Bioelectronics 19, 875-883 (2004)

[9] Batista, P., Doria, G., Henriques, D., Pereira, E., Franco, R., Colorimetric detection of eukaryotic gene
15 expression with DNA-derivatized gold nanoparticles. Journal of Biotechnology 119, 111-117 (2005)

[10] Cao, Y.C., Jin, R., Thaxton, C.S., Mirkin, C.A., A two-color-change, nanoparticle-based method for DNA
detection. Talanta 67, 449-455 (2005)

20 [11] Storhoff, J.J., Elghanian, R., Music, R.C., Mirkin, C.A., Letsinger, R.L., One-pot colorimetric differentiation of polynucleotides with single base imperfections using gold nanoparticle probes. J. Am. Chem. Soc. 120, 1959-1964 (1998)

25 [12] Sato, K., Hosokawa, K., Maeda, M., Rapid aggregation of gold nanoparticles induced by non-cross-linking DNA hybridization. J. Am. Chem. Soc. 125, 8102-8103 (2003)

[13] Lee, P.C., Meisel, D., Adsorption and surface-
30 enhanced Raman of dyes on silver and gold sols. J. Phys.

Chem. 86, 3391-3395 (1982)

[14] R. Martins, H. Águas, I. Ferreira, E. Fortunato
S. Lebib, P. Roca i Cabarrocas, L. Guimarães, Polymorphous
silicon films deposited at 27.12 MHz, Advanced Materials
5 CVD, 9 (6), 333 (2003);

[15] S. Zhang, L. Pereira, Z. Hu, L. Raniero, E.
Fortonato, I. Ferreira and R. Martins "Characterization of
nanocrystalline silicon carbide films". Journal of Non-
Crystalline Solids, Vol.352, issue1-9, 1410-1415. (2006).

10 [16] L. Raniero, I. Ferreira, L. Pereira, H. Águas, E.
Fortonato and R. Martins "Study of nanostructured silicon
by hydrogen evolution and its application in p-i-n solar
cells". Journal of Non-Crystalline Solids, Vol.352, issue1-
9 (2006), 1945-1948 (2006);

15 [17] I. Ferreira, L. Raniero, E. Fortunato and R.
Martins. "Electrical properties of amorphous and
nanocrystalline hydrogenated silicon films obtained by
impedance spectroscopy". Thin Solid Films, Vol. 511-512
(2006), pp. 390-393.

20 [18] S. Zhang, L. Raniero, E. Fortunato, I. Ferreira,
H. Águas, R. Martins, "Amorphous silicon-based PINIP
structure for color sensor". Thin Solid Films, 487 (1-2),
268-270 (2005).

[19] L. Raniero, N. Martins, P. Canhola, S. Zhang, S.
25 Pereira, I. Ferreira, E. Fortunato, R. Martins. "Influence
of the layer thickness and hydrogen dilution on electrical
properties of large area amorphous silicon p-i-n solar
cell", Solar Energy Materials and Solar Cells, 87 (1-4),
349-355 (2005).

30 [20] Y. Xu, Z. Hu, H. Diao, Y. Cai, S. Zhang, X. Zeng,

H. Hao, X. Liao, E. Fortunato and R. Martins
 "Heterojunction solar cells with n-type nanocrystalline
 silicon emitters on p-type c-Si wafers". Journal of Non-
 Crystalline Solids, Vol.352, issue1-9, 1972-1975 (2006).

5 [21] H. Águas, L. Pereira, D. Costa, E. Fortunato, R.
 Martins. "Linearity and sensitivity of MIS Position
 Sensitive Detectors Using MIS structures". Journal of
 Materials Science, 40 (6), (2005), pp. 1377-1381.

[22] E. Fortunato, L. Pereira, H. Águas, I. Ferreira,
 10 R. Martins "Flexible a-Si:H Position Sensitive Detectors",
 IEEE, 93 (7), 1281-1286 (2005).

[23] A. Pimentel, A. Gonçalves, A. Marques, R.
 Martins and E. Fortunato "Role of the thickness on the
 eletrical and otical performances of undoped
 15 polycrystalline zinc oxide films used as UV detectors".
 Journal of Non-Crystalline Solids, Vol.352, issue1-9
 (2006), pp. 1448-1452.

[24] P. Canhola, N. Martins, L. Raniero, S. Pereira,
 E. Fortunato, I. Ferreira, R. Martins "Role of annealing
 20 environment on the performances of large area ITO films
 produced by rf magnetron sputtering". Thin Solid Films, 487
 (1-2) (2005) pp. 271-276.

[25] R. Martins, P. Barquinha, A. Pimentel, L.
 Pereira, and E. Fortunato. "Transport in high mobility
 25 amorphous wide band gap indium zinc oxide films". Phys.
 stat. sol. (a) 202, No. 9, (2005), pp. R95- R97.

[26] E. Fortunato, P.M.C. Barquinha, A.C.M.B.G.
 Pimentel, A.M.F. Gonçalves, A.J.S. Marques, L.M.N. Pereira,
 R. Martins. "Fully transparent ZnO thin film transistor
 30 produced at room temperature". Advanced Materials, 17, 5,

590-594 (2005).

[27] E. Fortunato, P. Barquinha, A. Pimentel, A. Gonçalves, A. Marques, L. Pereira, R. Martins. "Recent advances in ZnO transparent thin film transistors". Thin Solid Films, 4487 (1-2) (2005) pp. 205-211.

[28] P. Barquinha, A. Pimentel, A. Marques, L. Pereira, R. Martins and E. Fortunato "Influence of the semiconductor thickness on the eletrical properties of transparent TFTs based on indium zinc oxide". Journal of Non-Crystalline Solids, Vol.352, issue1-9 (2006), pp. 1749-1752.

[29] L. Raniero, Produção, e Caracterização de Células Fotovoltaicas de Silício Nano-estruturado produzido por plasma de 27.12 MHz, Tese de doutoramento, defendida na UNL, Maio de 2006.

REIVINDICAÇÕES

1. Sistema para detecção, identificação e quantificação de matéria biológica, composto por uma ou mais fontes luminosas (1) combinadas com um ou mais
5 fotossensores óticos (6 e 7) e componentes eletrônicos vários (4), necessários para obtenção / processamento do sinal emitido por nanossondas, caracterizado por:

a) A fonte de luz (1), pulsada (2) ou não, composta por lasers em estado sólido de baixa energia ou diodos de
10 emissão de luz, cujo alcance do comprimento de onda está localizado entre 400 e 800 nm, com uma intensidade controlada de luminosidade que varia entre 0,01 mW/cm² e 100 mW/cm²;

b) O fotossensor, único (6 e 7a) e (6 e 7b) ou
15 integrado (6, 4, e 7), composto por finas películas de silicone nanocristalino ou microcristalino e/ou por novos semicondutores cerâmicos que funcionam num largo alcance de comprimentos de onda que vai desde os infravermelhos a ultravioleta e que fornece uma informação qualitativa e
20 quantitativa baseada na hibridação específica e seletiva de amostras funcionalizadas com nanopartículas metálicas;

c) A alimentação do sistema a ser fornecido através de um fonte de energia convencional ou através de baterias fotovoltaicas, atribuindo portabilidade ao sistema, sendo
25 emitida luz focalizada na amostra, possivelmente utilizando micro-lentes para esse efeito, sendo a(s) amostra(s) fisicamente não fixas aos sensores, através da colocação da referida amostra biológica (5) do lado oposto (6) do substrato onde o fotosensor (6 e 7) é depositado.

30 2. Sistema para detecção, identificação e

quantificação de matéria biológica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o fotossensor (6 e 7) ser sensível à cor e à intensidade luminosa; tendo uma sensibilidade entre 10^{-7} e 10^{-8} para a faixa de comprimentos de onda a ser utilizados; ter um sinal para razão de ruído superior a 3dB; tendo tempos de resposta superiores a 50 μ s; tendo correntes de saturação inferiores a 10^{-7} A/cm²; e para realizar o pico de absorção e respectivo controlo de sensibilidade através do teor de hidrogênio ou liga da camada ou camadas fotossensível(is) que constituem o sistema e/ou através de polarização adequada do sensor.

3. Sistema para detecção, identificação e quantificação de matéria biológica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 ou 2, caracterizado por o fotossensor (6 e 7) poder produzir uma variação monotônica do sinal elétrico (corrente ou tensão), que por escolha adequada do algoritmo de calibração e correção, é proporcional à concentração da amostra biológica (5).

4. Sistema para detecção, identificação e quantificação de matéria biológica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2 ou 3, caracterizado por o fotossensor (6 e 7) poder fornecer a energia necessária à sua auto-polarização.

5. Sistema para detecção, identificação e quantificação de matéria biológica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3 ou 4, caracterizado por o fotossensor (6 e 7) ser produzido em qualquer tipo de substrato (6) tal com celulósico, polimérico, vítreo, cerâmico e metálico, sendo este transparente para a faixa de comprimentos de onda de interesse e micromaquinado, ou

não, na superfície da face contrária onde se efetuou o depósito do fotosensor.

6. Sistema para detecção, identificação e quantificação de matéria biológica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4 ou 5, caracterizado os fotossensores (6 e 7) integrados (6, 4 e 7) poderem ser dispostos na forma linear, na forma de séries lineares de sensores, na forma de matriz ou em configuração em série (dispositivos empilhados).

10 7. Sistema para detecção, identificação e quantificação de matéria biológica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5 ou 6, caracterizado por qualquer das estruturas anteriormente referidas ser passível de ser encapsulada, por laminação ou não.

15 8. Sistema para detecção, identificação e quantificação de matéria biológica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6 ou 7, caracterizado o fotossensor (6 e 7) ser singular ou na forma de camadas múltiplas/ em série (6 e 7a) e (6 e 7b), integrados (6, 4 e 20 7) ou não, à base de silicone nanocristalino e suas ligas, e ser baseado em estruturas do tipo pi'ii'n, MIS e outras similares.

9. Sistema para detecção, identificação e quantificação de matéria biológica, de acordo com a 25 reivindicação 8, caracterizado por o fotossensor (6 e 7) ser baseado em estruturas do tipo pi'ii'n (6 e 7a) que incluem contatos de injetores / detectores de carga (9, 13); camada intrínseca com base numa liga (10, 12); camada fotossensitiva de resposta espectral regulável (11), de 30 acordo com a sua composição.

10. Sistema para detecção, identificação e quantificação de matéria biológica de acordo com a reivindicação 8, caracterizado por o fotossensor (6 e 7) ser baseado em estrutura MIS (6 e 7b) que incluem um
5 contato do tipo metálico (16), uma nanocamada composta por um elemento dielétrico, com elevadas propriedades de isolamento (17) e uma camada fotosensitiva de pico de absorção regulável (18) de acordo com a sua composição.

11. Sistema para detecção, identificação e
10 quantificação de matéria biológica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a fonte luminosa (1) ser de estado sólido, de espectro de radiação ultra estreito e bem definido, cobrindo eventualmente todo o espectro ótico da região visível.

15 12. Sistema para detecção, identificação e quantificação de matéria biológica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou 11, caracterizado por a fonte luminosa (1) ser monocromática, controlável, com potências de saída de 100 a 0,01 mW/cm².

20 13. Sistema para detecção, identificação e quantificação de matéria biológica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12, caracterizado por compreender uma fonte luminosa (1), um fotossensor (6 e 7) ligado, a uma fonte de tensão (19)
25 comandada por um microcontrolador (24), um filtro (20), um circuito amplificador (21), um circuito comparador (22), um gerador de sinal de referência (23), ligados a um microcontrolador e um microprocessador, portátil ou fixo.

14. Sistema para detecção, identificação e
30 quantificação de matéria biológica, de acordo com a

reivindicação 13, caracterizado por

a) o fotossensor (6 e 7) se encontrar ligado à fonte de tensão (19), para proceder à sua polarização;

b) a fonte de tensão (19) ser comandada por um microcontrolador (24);

c) existir um filtro (20) à saída do sensor (6,7);

d) o filtro (20) estar ligado a um circuito amplificador (21);

e) o circuito amplificador (21) estar ligado ao circuito comparador (22) que produz um sinal de referência (23)- resposta qualitativa, sendo também este sinal gerado por o microcontrolador (24);

f) todos os elementos anteriores ligados a um microprocessador, para armazenamento dos dados, processamento extra e conversão A/D.

15. Processo de detecção, identificação e quantificação de matéria biológica, caracterizado por se recorrer ao sistema das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 ou 14 e a sondas de nanopartículas de metal, preferencialmente o ouro, com integração de sensores óticos singulares (6 e 7) e de multicamada (6 e 7a), (6 e 7b) baseados na tecnologia de filmes finos de silício nanocristalino e suas ligas, e fontes luminosas monocromáticas e controláveis (1), igualmente de qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 ou 4.

16. Processo de detecção, identificação de e quantificação de matéria biológica, de acordo com a reivindicação 15, caracterizado por:

a) se preparar soluções de sondas de

nanopartículas de metal, preferencialmente o ouro, de diâmetro entre os 5 e os 30 nanómetros;

b) misturar a amostra de ácidos nucleicos a detectar e/ou identificar com a sonda num intervalo de 5 temperaturas entre os 5 e os 45°C;

c) promover a agregação das sondas de nanopartículas de metal com a amostra através de uma variação da força iónica do meio;

d) colocação das soluções resultantes, ou líquido 10 biológico (5) na superfície do lado posterior do fotossensor (6) do sistema de detecção definido nas reivindicações 1 a 14, sem que haja um contacto directo entre as sondas de nanopartículas em ouro e sensor (6), para hibridização posterior.

15 17. Utilização do sistema e processo para detecção, identificação e quantificação de matéria biológica, de qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 ou 16, caracterizada pelo fato de ser para a detecção e identificação qualitativa e 20 quantitativa de material genético presente numa amostra biológica.

18. Utilização do sistema e processo para detecção, identificação e quantificação de matéria biológica, de qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 25 10, 11, 12, 13, 14, 15 ou 16, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada por se basear num método colorimétrico, cuja alteração de cor é detectada por um sensor ótico de filme fino, em função de:

a) Comprimento de onda da luz emitida /absorvida pelo 30 meio;

b) Desvio do comprimento, em função do sinal de referência;

c) intensidade do sinal emitido/absorvido, em função do número de fentomoles detectáveis;

5 d) Desvio de intensidade do sinal elétrico detectável (corrente ou tensão) por mais de um sensor, dispostos numa configuração em série/camadas múltiplas, onde o pico de absorção associado a cada estrutura empilhada pode ser comutado.

10 e) resposta de frequência, em função da polarização aplicada no sensor.

f) resposta do pico de intensidade controlável, em função da tensão de polarização aplicada.

15 19. Utilização do sistema fixo ou portátil e processo para detecção, identificação e quantificação de matéria biológica, de qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 ou 16, de acordo com a reivindicação 17 ou 18, caracterizada pelo fato de configurarem sistemas de detecção e/ou identificação e/ou
20 quantificação de amostras ou soluções de composto biológico, tais como ácidos nucleicos, oligonucleotídeos complementares a sequências específicas de ADN/ARN, proteínas, tais como anticorpos e/ou antigêneos relacionados com determinada doença, presentes numa amostra
25 biológica.

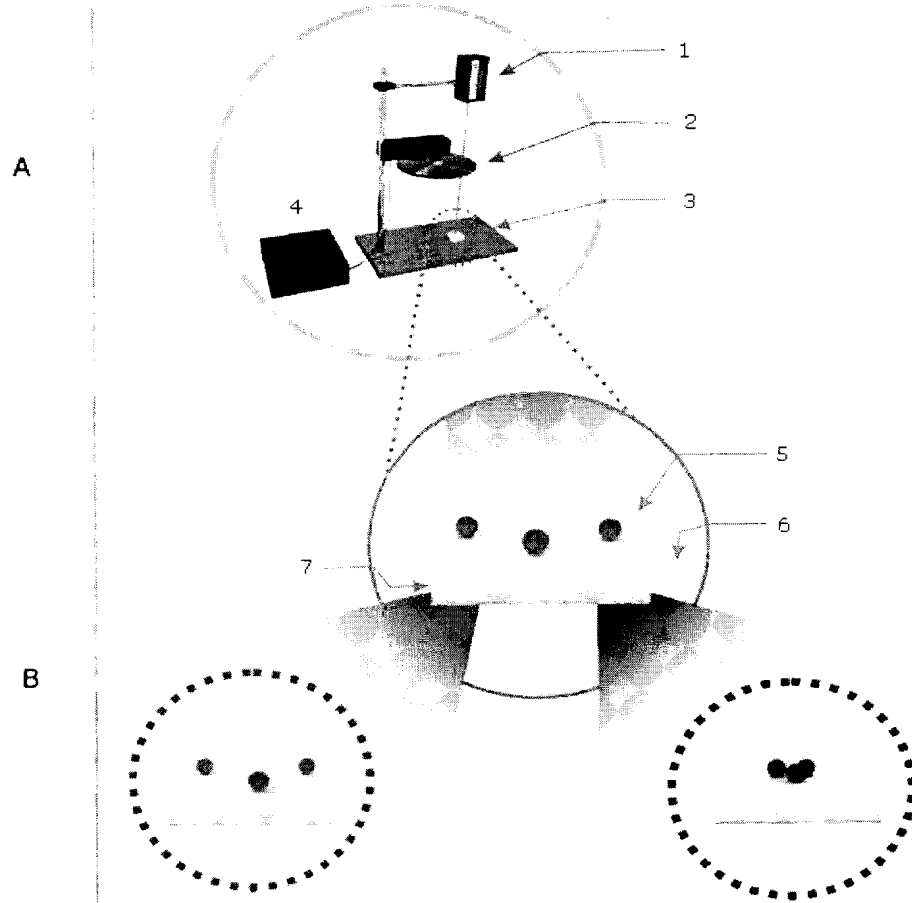


Figura 1

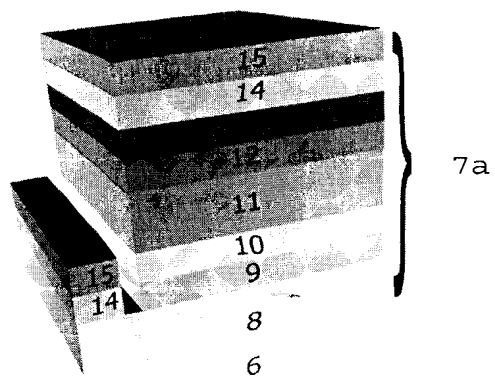


Figura 2a

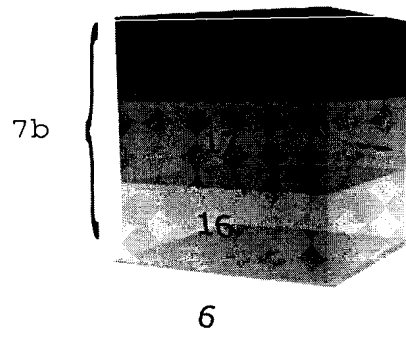


Figura 2b

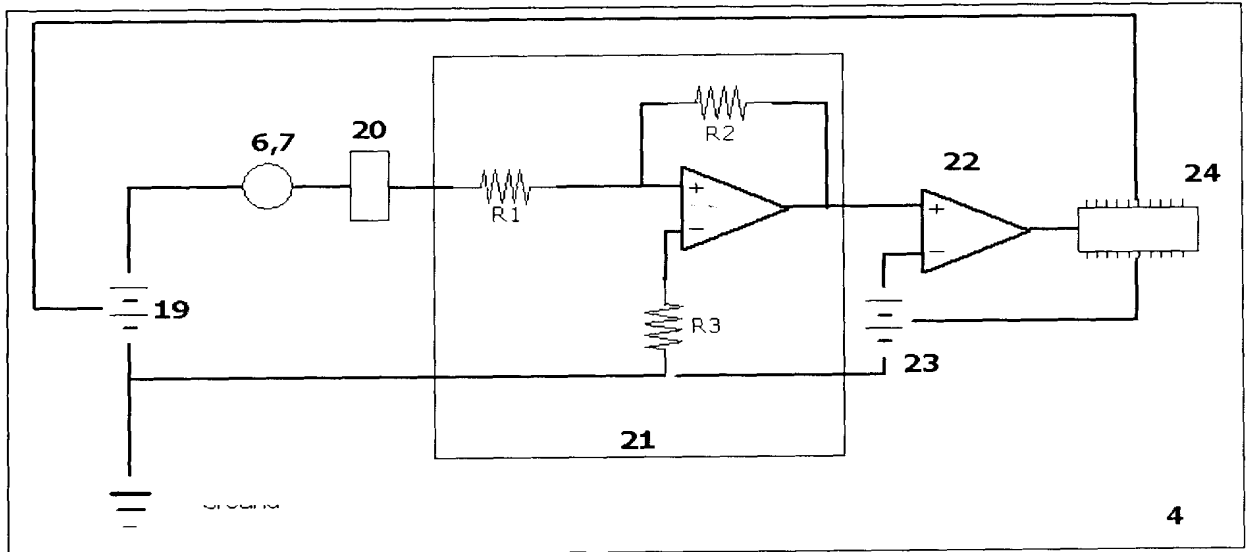


Figura 3

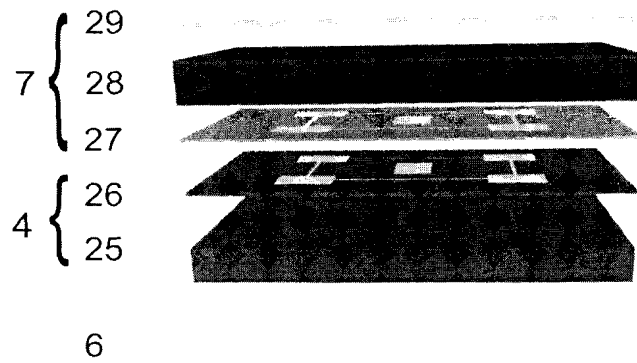


Figura 4

RESUMO

SISTEMA DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE MATÉRIA BIOLÓGICA
CONSTITUÍDO POR UM OU MAIS SENSORES ÓTICOS E UMA OU MAIS
FONTES LUMINOSAS, PROCESSO ASSOCIADO E RESPECTIVAS
UTILIZAÇÕES

A presente invenção relaciona-se com um sistema e processo para detecção e/ou identificação qualitativa e quantitativa de matéria biológica, tais como sequências específicas de ácidos nucleicos ou proteínas, como anticorpos, presentes em amostras biológicas.

O sistema é constituído por uma ou mais fontes luminosas (1) combinadas, com um ou mais fotossensores óticos integrados, ou não, e componentes eletrônicos vários (4), necessários para a obtenção / condicionamento do sinal emitido por nanossondas de metal funcionalizadas com uma solução de composto biológico, bem como ainda um microcontrolador e um microprocessador, portátil ou fixo. Esta estrutura de fotossensor é capaz de detectar e quantificar as diferenças colorimétricas produzidas por nanossondas de metal, sendo este preferencialmente o ouro, funcionalizadas por oligonucleotídeos complementares às sequências específicas de ADN/ARN, proteínas, como por exemplo anticorpos e/ou antígenos relacionados com determinada doença, ou outra amostra ou solução de composto biológico, que se pretende pesquisar. O processo de detecção e quantificação baseia-se na resposta de um fotossensor, singular ou integrado, baseado na tecnologia de filmes finos de silício amorfo, nanocristalino ou microcristalino, e suas ligas, e também nos novos cerâmicos semicondutores ativos, amorfos e não amorfos.