

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 924 907**

51 Int. Cl.:

**C12Q 1/6869** (2008.01)

**G01N 27/414** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.03.2016 E 20195062 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.07.2022 EP 3766991**

54 Título: **Estabilización superficial de biosensores**

30 Prioridad:

**05.03.2015 US 201562128916 P**

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

**11.10.2022**

73 Titular/es:

**LIFE TECHNOLOGIES CORPORATION (100.0%)  
5823 Newton Drive  
Carlsbad, CA 92008, US**

72 Inventor/es:

**WAGGONER, PHIL;  
BALL, JAMES;  
HINZ, WOLFGANG;  
MINTO, MICHAEL;  
PARKER, SCOTT;  
COX, DAVID;  
MASTROIANNI, ALEXANDER;  
GRAY, JEREMY;  
GLAZER, MARC y  
GORRELL, KIMBERLY**

74 Agente/Representante:

**GARCÍA GONZÁLEZ, Sergio**

**ES 2 924 907 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

Estabilización superficial de biosensores

## 5 Campo de la descripción

Esta descripción, en general, se refiere a biosensores de superficie estabilizada.

## 10 Antecedentes

10 Existe un interés creciente en los sensores electrónicos para detectar agentes químicos y biológicos, analitos o subproductos de reacción. Además, existe un impulso para desarrollar sensores con mayor sensibilidad, capaces de detectar cambios cada vez más pequeños en la concentración o el pH de la solución. También hay un movimiento hacia la disminución de los volúmenes de reacción, particularmente cuando se detectan los subproductos de las reacciones.

15 En un sistema ilustrativo, la secuenciación de biomoléculas basada en el pH, tales como ácidos nucleicos o proteínas, usa pequeños cambios en el pH en volúmenes de reacción del orden de nano litros o menores. Por ejemplo, los ácidos nucleicos diana pueden disponerse en volúmenes de menos de un nano litro y la incorporación de nucleótidos a lo largo de los ácidos nucleicos diana puede detectarse en base a pequeños cambios en el pH resultantes de la incorporación de nucleótidos.

20 La confiabilidad de sensores tan sensibles puede verse influenciada tanto por la estabilidad de los dispositivos sensores como por la consistencia de la calibración del sensor. Tal estabilidad y calibración constante pueden verse afectadas por el embalaje, el almacenamiento y el transporte.

25 El documento US 2014/191292 se refiere a métodos de fabricación de un sensor para la secuenciación de ácidos nucleicos que tiene una capa protectora que evita la contaminación de la superficie del sensor durante varias etapas de fabricación.

## 30 Resumen

35 En un aspecto de la invención, se proporciona un aparato sensor que incluye un sustrato, un dispositivo semiconductor dispuesto sobre el sustrato y una tapa de una celda de flujo. El dispositivo semiconductor incluye una matriz de sensores, incluyendo cada sensor un transistor de efecto de campo químico que tiene una estructura de electrodo de compuerta y una estructura de electrodo de superficie que forma al menos parte de la estructura de electrodo de compuerta. El dispositivo semiconductor incluye además un recubrimiento de sacárido formado sobre cada estructura de electrodo de superficie del dispositivo semiconductor. La tapa de la celda de flujo está sobre el sustrato y define una celda de flujo entre la tapa de la celda de flujo y el sustrato. El recubrimiento de sacárido se configura para eliminarse antes del uso del aparato sensor. Una estructura de pozo puede definir un pozo que expone la estructura del electrodo de superficie, y se puede depositar una perla en el pozo. En un ejemplo, se puede aplicar una solución de sacárido a través de la celda de flujo y sobre el dispositivo semiconductor, formando un recubrimiento de sacárido sobre la estructura del electrodo de superficie del dispositivo semiconductor. El aparato sensor se puede secar y envasar, dejando el recubrimiento de sacárido sobre la estructura del electrodo de superficie durante el transporte y el almacenamiento. En un punto de uso, se puede aplicar una solución de lavado a través de la celda de flujo, eliminando el recubrimiento de sacárido y exponiendo la estructura del electrodo de superficie al fluido que pasa a través de la celda de flujo.

## 50 Breve descripción de los dibujos

La presente descripción puede entenderse mejor, y sus numerosas características y ventajas se harán evidentes para los expertos en la técnica haciendo referencia a los dibujos acompañantes.

55 La Figura 1, la Figura 2A, la Figura 2B y la Figura 2C incluyen ilustraciones de partes de un aparato sensor ilustrativo.

La Figura 3, la Figura 4, la Figura 5 y la Figura 6 incluyen ilustraciones de aparatos sensores ilustrativos.

La Figura 7 y la Figura 8 incluyen ilustraciones de métodos ilustrativos para tratar y usar un aparato sensor que no forma parte de la invención.

60 La Figura 9, la Figura 10, la Figura 11, la Figura 12 y la Figura 13 incluyen ilustraciones de un colector de preparación ilustrativo de un sistema de tratamiento que no es de la invención.

La Figura 14 incluye una ilustración de un sistema de tratamiento ilustrativo que no es de la invención.

La Figura 15 incluye una ilustración de un sistema de detección ilustrativo que no es de la invención.

El uso de los mismos símbolos de referencia en diferentes dibujos indica elementos similares o idénticos.

65

## Descripción detallada

En la presente invención, un aparato sensor incluye un sustrato, un dispositivo semiconductor dispuesto sobre el sustrato y una tapa de una celda de flujo. El dispositivo semiconductor incluye una matriz de sensores, incluyendo cada sensor un transistor de efecto de campo químico que tiene una estructura de electrodo de compuerta, y tiene una estructura de electrodo de superficie que forma al menos parte de la estructura de electrodo de compuerta. El dispositivo semiconductor incluye además un recubrimiento de sacárido formado sobre cada estructura de electrodo de superficie del dispositivo semiconductor. La tapa de la celda de flujo está sobre el sustrato y define una celda de flujo entre la tapa de la celda de flujo y el sustrato. El recubrimiento de sacárido se configura para eliminarse antes del uso del aparato sensor. El dispositivo semiconductor puede incluir además una estructura de pozo que define pozos sobre las estructuras de electrodos de superficie. Opcionalmente, se pueden disponer perlas en los pozos y las perlas se pueden conjugar con ácidos nucleicos. Se define una celda de flujo entre el sustrato y la tapa de la celda de flujo. En un ejemplo, se puede aplicar una solución de sacárido a través de la celda de flujo y sobre el dispositivo semiconductor, formando un recubrimiento de sacárido sobre la estructura del electrodo de superficie del dispositivo semiconductor y, opcionalmente, sobre una perla. El aparato sensor se puede secar y envasar, dejando el recubrimiento de sacárido sobre la estructura del electrodo de superficie durante el transporte y el almacenamiento. En un punto de uso, se puede aplicar una solución de lavado a través de la celda de flujo, eliminando el recubrimiento de sacárido y exponiendo la estructura del electrodo de superficie al fluido que pasa a través de la celda de flujo.

En un ejemplo particular, un sistema de secuenciación usa un aparato sensor de la invención que incluye una celda de flujo a la que se expone una matriz sensorial. El sistema de secuenciación incluye circuitos de comunicación en comunicación electrónica con la matriz sensorial, e incluye contenedores y controles de fluidos en comunicación de fluidos con la celda de flujo. En un ejemplo, la Figura 1 ilustra una vista ampliada y en sección transversal de una celda de flujo 100 e ilustra una parte de una cámara de flujo 106. Un flujo de reactivo 108 fluye a través de una superficie de una matriz de micro pozos 102, en la que el flujo de reactivo 108 fluye sobre los extremos abiertos de los micro pozos de la matriz de micro pozos 102. La matriz de micro pozos 102 y una matriz de sensores 105 juntas pueden formar una unidad integrada que forma una pared inferior (o piso) de la celda de flujo 100. Un electrodo de referencia 104 se puede acoplar de manera fluida a la cámara de flujo 106. Además, una tapa o cubierta de celda de flujo 130 encapsula la cámara de flujo 106 para contener el flujo de reactivo 108 dentro de una región confinada.

La Figura 2A ilustra una vista ampliada de un micro pozo 201 y un sensor 214, como se ilustra en 110 de la Figura 1. El volumen, la forma, la relación de aspecto (como la relación entre el ancho de la base y la profundidad del pozo) y otras características dimensionales de los micro pozos se pueden seleccionar en base a la naturaleza de la reacción que tiene lugar, así como también de los reactivos, los subproductos o las técnicas de marcaje (si las hay) que se emplean. El sensor 214 puede ser un transistor de efecto de campo químico (chemFET), más específicamente un FET sensible a iones (ISFET), con una compuerta flotante 218 que tiene una placa sensora 220 opcionalmente separada del interior del micro pozo por una capa de pasivación 216 u otro metal, capas de nitruro metálico u óxido metálico, o sus combinaciones. En conjunto, la placa sensora 220, la capa de pasivación opcional 216 u otras capas forman una estructura de electrodo. El sensor 214 puede responder a (y generar una señal de salida relacionada con) la cantidad de carga 224 presente en la capa de pasivación 216 opuesta a la placa sensora 220. Los cambios en la carga 224 pueden provocar cambios en la corriente entre una fuente 221 y un drenaje 222 del chemFET. A su vez, el chemFET se puede usar directamente para proporcionar una señal de salida basada en corriente o indirectamente con circuitos adicionales para proporcionar una señal de salida basada en tensión. Los reactivos, las soluciones de lavado y otros reactivos pueden entrar y salir de los micro pozos mediante un mecanismo de difusión 240.

Las reacciones llevadas a cabo en el micro pozo 201 pueden ser reacciones analíticas para identificar o determinar características o propiedades de un analito de interés. Tales reacciones pueden generar directa o indirectamente subproductos que afectan la cantidad de carga adyacente a la placa sensora 220. Si tales subproductos se producen en pequeñas cantidades o se descomponen rápidamente o reaccionan con otros constituyentes, se pueden analizar múltiples copias del mismo analito en el micro pozo 201 al mismo tiempo para aumentar la señal de salida generada. Se pueden unir múltiples copias de un analito a un soporte de fase sólida 212, ya sea antes o después de la deposición en el micro pozo 201. El soporte de fase sólida 212 puede ser micropartículas, nanopartículas, perlas, geles que comprenden sólidos o porosos, o similares. Para simplificar y facilitar la explicación, el soporte de fase sólida 212 también se denomina en la presente descripción perla o partícula. Para un analito de ácido nucleico, se pueden hacer múltiples copias conectadas mediante amplificación de círculo rodante (RCA), RCA exponencial o técnicas similares, para producir un amplicón sin el uso de un soporte sólido.

La calidad de la señal del chemFET puede verse influenciada por las cualidades superficiales del micro pozo 201 y la estructura del electrodo. Para proteger o estabilizar la superficie, se puede aplicar un recubrimiento de sacáridos sobre las superficies. Por ejemplo, como se ilustra en la Figura 2B, después del ensamblaje y antes del uso, se puede formar un recubrimiento de sacárido 226 sobre la estructura del sensor 214. El recubrimiento de sacárido 226 puede ser conforme, como se ilustra en la Figura 2B. Alternativamente, el recubrimiento de sacárido puede llenar el micro pozo 201 y, opcionalmente, partes de la celda de flujo 106.

En otro ejemplo, se puede disponer una perla en el pozo. Por ejemplo, como se ilustra en la Figura 2C, el recubrimiento de sacárido 226 se puede formar sobre la perla 212 y sobre la estructura del sensor 214. El recubrimiento de sacárido puede ser conforme o llenar el micro pozo 201 y puede ocupar opcionalmente partes de la celda de flujo 106.

Antes del uso, se puede aplicar una solución de lavado a través de la celda de flujo 106 para eliminar el recubrimiento de sacárido 226, proporcionando un micro pozo 201 en el que, por ejemplo, se puede proporcionar un soporte de fase sólida 212 y se pueden realizar mediciones de concentración de iones o pH, o cuando un soporte sólido está presente antes del lavado, el soporte sólido puede exponerse para su uso en las mediciones.

Las celdas de flujo se pueden ensamblar con una matriz de micro pozos y una matriz de sensores de varias maneras. En una modalidad, ilustrada en las Figuras 3-6, se fabrica una celda de flujo uniendo un elemento de interfaz de fluidos a una carcasa que contiene un chip sensor. Por lo general, una matriz integrada de sensores de micro pozos (es decir, un chip sensor) se monta en una carcasa o paquete que protege el chip y proporciona contactos eléctricos para comunicarse con otros dispositivos. Un elemento de interfaz de fluidos se diseña para proporcionar una cavidad o cámara de flujo a través de la cual pasan los reactivos cuando está unido herméticamente a tal carcasa. En un aspecto, dicha unión se logra pegando las piezas entre sí. La Figura 3 ilustra una vista inferior (o cara) de un componente 400 de una celda de flujo. En la modalidad ilustrada, se forma una celda de flujo completa uniendo el componente 400 a un paquete que contiene una matriz de sensores (como se muestra en las Figuras 5 y 6). Un reborde 401 se eleva desde una superficie 413 y forma las paredes 410 de una cámara de flujo elipsoidal 408 cuando se acopla con el chip 430 ilustrado en la Figura 5. El componente 400 se puede pegar a la carcasa del chip 430 para formar un sello hermético a los fluidos. La Figura 4 ilustra una vista superior (o cara) 416 del componente o miembro 400 que muestra los collares de entrada y salida 418 y 420 que permiten que la celda de flujo se conecte de manera sellada a un sistema de fluidos. Los tubos de entrada y salida conectados a miembros anulares elastoméricos se pueden insertar en los collares 418 y 420 para que el material elastomérico forme un sello a lo largo del piso y las paredes de los collares 418 y 420. Se pueden usar otros métodos para conectar una celda de flujo a un sistema de fluidos, incluidos otros tipos de accesorios a presión, accesorios basados en abrazaderas, accesorios atornillados o similares. El componente 400 se puede adaptar para acomodar chips de diferentes tamaños con un simple cambio de diseño, como se ilustra en los pasajes 422 y 424. Es decir, para una matriz pequeña 434 ilustrada en la Figura 5, un pasaje que tiene una abertura en el centro del collar de entrada 418 y del collar de salida 420 puede ser dirigido por dicho pasaje hacia el centro del componente o miembro 400 a un puerto de entrada y un puerto de salida sobre la matriz 430. Asimismo, para una matriz 436 grande, ilustrada en la Figura 6, los pasajes similares 442 y 444 pueden alejarse del centro del componente 400 y hacia la entrada y la salida de la matriz 436. Un diseño de este tipo proporciona ventajosamente un diseño de celda de flujo básico único que se puede usar con múltiples tamaños de conjuntos de sensores. Se puede emplear una lengüeta sobresaliente 412 y un bisel 414 para asegurar la colocación correctamente orientada de un chip en un zócalo o dispositivo complementario para realizar conexiones de fluidos y eléctricas con el resto del dispositivo.

El chip o conjunto de chip puede tratarse para proteger los sensores o perlas dispuestas en el chip durante el transporte. En un ejemplo particular, como se ilustra en la Figura 7, un método 700 incluye aplicar una tapa de celda de flujo sobre un sustrato semiconductor para definir una celda de flujo de un aparato sensor, como se ilustra en 702. Los puertos de acceso a través de la tapa de la celda de flujo pueden proporcionar acceso de fluidos a los dispositivos sensores de la celda de flujo del aparato sensor. Los dispositivos sensores pueden incluir estructuras de electrodos o puertas que se exponen a los fluidos aplicados a través de la tapa de la celda de flujo y que fluyen a través de la celda de flujo.

Como se ilustra en 704, se puede aplicar una solución de limpieza a través de la celda de flujo. La solución de limpieza puede ser una solución básica, como una solución que incluya NaOH, una solución ácida o sus combinaciones. En un ejemplo, la solución ácida es una solución no acuosa que incluye un tensioactivo aniónico, tal como un tensioactivo de ácido sulfónico, por ejemplo, ácido dodecibencenosulfónico (DBSA). En particular, el sustrato semiconductor se puede limpiar mediante el uso de una secuencia de circulación de la solución ácida no acuosa, agua o alcohol y la solución base.

Opcionalmente, se pueden depositar perlas sobre el dispositivo sensor, por ejemplo, en pozos formados sobre el sustrato semiconductor, como se ilustra en 706. Opcionalmente, las perlas se pueden conjugar con una biomolécula, como un ácido nucleico.

En un ejemplo, las perlas se pueden formar a partir de una red polimérica, tal como una red polimérica sin ácido nucleico. Redes ilustrativas de polímeros no nucleicos agarosa; polietilenglicol; polioxibutileno; dietilacrilamida; polioxietileno; poliácridamida; polioxipropileno; N,N-polidimetilacrilamida; poli(N-isopropilacrilamida); polivinilpirrolidona; poli-N-hidroxiacrilamida; similares; o cualquiera de sus combinaciones. En un ejemplo particular, la red polimérica incluye polietilenglicol. En otro ejemplo, la red polimérica incluye poliácridamida. En particular, la red polimérica puede formar un hidrogel. Por ejemplo, la perla cuando está en una solución acuosa puede tener del 0,1 % al 10 % de polímero en peso, tal como del 0,5 % al 8 % de polímero o del 0,8 % al 5 % de polímero.

En otro ejemplo, las perlas se pueden conjugar con una biomolécula. En un ejemplo particular, la biomolécula se puede unir covalentemente a la red polimérica de la perla, ya sea directamente o a través de un conector. La biomolécula puede ser un ácido nucleico, tal como ADN o ARN. En particular, el ácido nucleico puede ser un oligonucleótido, como una sonda de captura o un cebador. En otro ejemplo, el ácido nucleico puede ser un polinucleótido a secuenciar.

En un ejemplo, como se ilustra en 708, se puede aplicar una solución de sacárido a través de la celda de flujo. En un ejemplo, la solución de sacárido es una solución acuosa que incluye un sacárido. Opcionalmente, la solución de sacárido también puede incluir un tensioactivo. En otro ejemplo, la solución de sacárido puede incluir un alcohol.

El sacárido puede incluir un monosacárido, un disacárido, un polisacárido, un derivado del mismo o sus combinaciones. En un ejemplo, un monosacárido incluye glucosa, fructosa, galactosa o sus combinaciones. En otro ejemplo, un disacárido incluye sacarosa, trehalosa, maltosa o lactosa, o sus combinaciones. En un ejemplo particular, el disacárido incluye sacarosa. En otro ejemplo, el disacárido incluye trehalosa. En otro ejemplo, el sacárido puede incluir ácido hialurónico. El sacárido se puede incluir en la solución de sacárido en un intervalo de 5 % en peso a 30 % en peso, tal como un intervalo de 5 % en peso a 20 % en peso, un intervalo de 10 % en peso a 20 % en peso, o un intervalo de 10 % en peso a 15 % en peso.

La solución de sacárido puede incluir además un tensioactivo. El tensioactivo puede ser un tensioactivo iónico, un tensioactivo anfótero o zwitteriónico, un tensioactivo no iónico o sus combinaciones. El tensioactivo iónico puede ser un tensioactivo aniónico. Un tensioactivo aniónico ilustrativo incluye un tensioactivo de sulfato, un tensioactivo de sulfonato, un tensioactivo de fosfato, un tensioactivo de carboxilato o cualquiera de sus combinaciones. Un tensioactivo de sulfato ilustrativo incluye sulfatos de alquilo, tales como laurilsulfato de amonio, laurilsulfato de sodio (dodecilsulfato de sodio, (SDS)), o sus combinaciones; un sulfato de éter de alquilo, tal como lauril éter sulfato de sodio, myreth sulfato de sodio, o cualquiera de sus combinaciones; o cualquiera de sus combinaciones. Un tensioactivo de sulfonato ilustrativo incluye un sulfonato de alquilo, tal como sulfonato de dodecilo sódico; docusatos tales como dioctil sulfosuccinato de sodio; sulfonato de alquilbencilo (por ejemplo, ácido dodecilibencenosulfónico o sales del mismo); o cualquiera de sus combinaciones. Un tensioactivo de fosfato ilustrativo incluye alquil aril éter fosfato, alquil éter fosfato o cualquiera de sus combinaciones. Un tensioactivo de ácido carboxílico ilustrativo incluye carboxilatos de alquilo, tales como sales de ácidos grasos o estearato de sodio; lauroilsarcosinato de sodio; una sal de ácido biliar, tal como desoxicolato de sodio; o cualquiera de sus combinaciones.

En otro ejemplo, el tensioactivo iónico puede ser un tensioactivo catiónico. Un tensioactivo catiónico ilustrativo incluye aminas primarias, secundarias o terciarias, tensioactivos de amonio cuaternario o cualquiera de sus combinaciones. Un tensioactivo de amonio cuaternario ilustrativo incluye sales de alquiltrimetilamonio, tales como bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) o cloruro de cetiltrimetilamonio (CTAC); cloruro de cetilpiridinio (CPC); amina de sebo polietoxilada (POEA); cloruro de benzalconio (BAC); cloruro de bencetonio (BZT); 5-bromo-5-nitro-1,3-dioxano; cloruro de dimetildioctadecilamonio; bromuro de dioctadecildimetilamonio (DODAB); o cualquiera de sus combinaciones.

Un tensioactivo anfótero o zwitteriónico ilustrativo incluye una amina primaria, secundaria o terciaria o un catión de amonio cuaternario con un anión sulfonato, carboxilato o fosfato. Un tensioactivo anfótero de sulfonato ilustrativo incluye (3-[(3-colamidopropil)dimetilamonio]-1-propanosulfonato); una sultaina tal como cocamidopropil hidroxisultaina; o cualquiera de sus combinaciones. Un tensioactivo anfótero de ácido carboxílico ilustrativo incluye aminoácidos, iminoácidos, betaínas tales como cocamidopropil betaína o cualquiera de sus combinaciones. Un tensioactivo anfótero de fosfato ilustrativo incluye lecitina. En otro ejemplo, el tensioactivo anfótero o zwitteriónico puede ser un alquilsulfonato de alquilamino, como un sulfonato de alquildimetilamoniopropano, donde el grupo alquilo tiene entre 5 y 20 carbonos, por ejemplo, entre 8 y 18 carbonos, entre 8 y 14 carbonos, o entre 10 y 14 carbonos. En un ejemplo particular, el tensioactivo incluye n-dodecil-N,N-dimetil-3-amonio-1-propanosulfonato.

En otro ejemplo, el tensioactivo puede ser un tensioactivo no iónico como un tensioactivo a base de polietilenglicol, un tensioactivo de alquilpirrolidina, un tensioactivo de alquilimidazolidinona, un tensioactivo de alquilmorfolina, un tensioactivo de alquilimidazol, un tensioactivo de alquilimidazolina o una de sus combinaciones. En un ejemplo particular, el tensioactivo basado en polietilenglicol incluye un éter de polietilenglicol, tal como un polietoxilato de alquilfenol. En otro ejemplo, el tensioactivo no iónico puede ser un polisacárido de alquilo. En otro ejemplo, el tensioactivo no iónico incluye un tensioactivo fluorado no iónico, como un fluorocarbono etoxilado. En otro ejemplo, la solución de tensioactivo puede incluir octilpirrolidina.

En particular, la solución de tensioactivo puede incluir combinaciones de dichos tensioactivos. Por ejemplo, la solución de tensioactivo puede incluir una combinación de un tensioactivo zwitteriónico con un tensioactivo aniónico. En un ejemplo particular, la solución de tensioactivo puede incluir un tensioactivo de ion híbrido, como un alquilsulfonato de alquilamino, y un tensioactivo aniónico, como un tensioactivo de sulfato, por ejemplo, SDS.

En un ejemplo, la solución de tensioactivo puede incluir uno o más tensioactivos que tengan una concentración total en el intervalo de 0,001 % a 20 % en peso. Por ejemplo, el tensioactivo se puede incluir en una cantidad total en un

intervalo de 0,01 % a 10,0 %, como un intervalo de 0,01 % a 5,0 %, un intervalo de 0,05 % a 1,0 % o un intervalo de 0,05 % a 0,5 % en peso.

5 En otro ejemplo, la solución de tensioactivo puede incluir un alcohol, como metanol, etanol, alcohol isopropílico, alcohol isobutílico o una de sus combinaciones. En un ejemplo, el alcohol se puede incluir en una cantidad en un intervalo de 5,0 % en peso a 70,0 % en peso, tal como un intervalo de 10 % en peso a 50 % en peso.

10 Como se ilustra en 710, la solución de sacárido se puede eliminar de la celda de flujo, dejando un recubrimiento de sacárido sobre el sustrato semiconductor. El recubrimiento de sacárido puede ser conforme. En otro ejemplo, el recubrimiento de sacárido puede llenar los pozos definidos sobre el sustrato semiconductor. En la presente invención, el recubrimiento de sacárido se dispone sobre estructuras de electrodos de dispositivos sensores sobre el sustrato semiconductor.

15 Como se ilustra en 712, el aparato sensor está empaquetado. Por ejemplo, el aparato sensor puede secarse y luego insertarse en un paquete sellado para su envío. En un ejemplo, el empaque tiene características de disipación electrostática. En otro ejemplo, el empaque puede ser resistente al agua o a la humedad. En un ejemplo adicional, se puede agregar un desecante al empaque. Como tal, el recubrimiento de sacárido permanece en contacto con el dispositivo sensor para el transporte y almacenamiento del aparato sensor.

20 En el punto de uso, el recubrimiento de sacárido puede eliminarse como preparación para usar el aparato sensor. Como se ilustra en la Figura 8, un método 800 (no de la invención) incluye hacer fluir una solución de lavado a través de la celda de flujo del aparato sensor, como se ilustra en 802. En un ejemplo (no de la invención), la solución de lavado puede ser agua o una solución acuosa. En otro ejemplo (no de la invención), la solución de lavado puede incluir un tensioactivo. En un ejemplo adicional (no de la invención), la solución de lavado puede incluir un alcohol.  
25 Un ejemplo de alcohol incluye etanol, metanol, alcohol isopropílico, alcohol isobutílico o una de sus combinaciones. En un ejemplo (no de la invención), el alcohol se puede incluir en una cantidad en un intervalo de 5 % en peso a 70 % en peso, tal como un intervalo de 10 % a 50 %. En otro ejemplo (no de la invención), se puede usar alcohol puro.

30 La solución de lavado que fluye a través de la celda de flujo elimina el recubrimiento de sacárido y expone una estructura de electrodo sensor de los dispositivos sensores y, opcionalmente, una perla. Tras la eliminación del recubrimiento de sacárido, se puede usar el sensor.

35 Por ejemplo, se puede aplicar un objetivo biomolecular, como un ácido nucleico o una proteína, al aparato sensor, como se ilustra en 804. En un ejemplo particular (no de la invención), se pueden aplicar ácidos nucleicos o proteínas sobre un electrodo sensor del dispositivo sensor. En un ejemplo (no de la invención), el objetivo biomolecular se une a una perla y se deposita en un pozo del dispositivo sensor. En otro ejemplo (no de la invención), los pozos del dispositivo sensor pueden incluir perlas antes del lavado, y el objetivo biomolecular puede ser capturado por dichas perlas. En un ejemplo particular (no de la invención), una perla que tiene un oligonucleótido complementario puede capturar una diana de ácido nucleico y opcionalmente amplificarla para proporcionar una pluralidad de copias de la  
40 diana de ácido nucleico en la perla. En particular, se puede aplicar una pluralidad de copias de ácidos nucleicos sobre un dispositivo sensor y se puede realizar la secuenciación por síntesis a través de la detección de cambios en el pH en respuesta a la incorporación de nucleótidos.

45 Como se ilustra en 806, el aparato sensor se puede aplicar a un sistema detector. Por ejemplo, el aparato sensor puede conectarse de manera fluida a un conjunto de reactivos y puede conectarse electrónicamente a sistemas de medición y control. Se puede aplicar una serie de reactivos a una celda de flujo del aparato sensor, y se pueden realizar mediciones mediante el uso de los dispositivos sensores del aparato sensor. En un ejemplo particular (no de la invención), como se ilustra en 808, se puede secuenciar un objetivo biomolecular mediante el uso de un sistema detector de este tipo. Por ejemplo, los ácidos nucleicos se pueden secuenciar mediante el uso de secuenciación por  
50 síntesis y detectando cambios en el pH mediante el uso de los dispositivos sensores.

La Figura 9, la Figura 10, la Figura 11, la Figura 12 y la Figura 13 incluyen ilustraciones de un aparato de tratamiento  
55 ilustrativo de la descripción y no de la invención para tratar aparatos sensores en preparación para el envasado y almacenamiento. Como se ilustra en la Figura 9, un aparato de tratamiento 900 incluye una plataforma 902 configurada para asegurar una bandeja 904. La bandeja 904 incluye ranuras 906 para recibir aparatos sensores 908. Como se ilustra, los aparatos sensores 908 se aplican para tener interfaces electrónicas mirando hacia arriba e interfaces de fluidos a la celda de flujo mirando hacia abajo. Alternativamente, los aparatos sensores 908 pueden aplicarse para tener interfaces electrónicas mirando hacia abajo e interfaces de fluidos a la celda de flujo mirando hacia abajo.

60 Mediante el uso de un mango 910, la plataforma 902 puede guiarse a lo largo de los rieles 912 debajo de la abrazadera 914. Cuando se coloca debajo de la abrazadera 914, la plataforma 902 alinea los dispositivos sensores y, en particular, el acceso de fluido a las celdas de flujo de los aparatos sensores con un colector de fluidos 1022 y puertos 1124, como se ilustra en la Figura 10 y la Figura 11.

65

La abrazadera 914 se sostiene por soportes 918. Un mango 916 puede impulsar la abrazadera 914 hacia abajo, empujando la plataforma 902 hacia abajo para enganchar el colector de fluido 1022. Una estructura de acoplamiento 1020 puede incluir una o más estructuras elásticas 1226 (ilustradas en la Figura 12) para acoplar aparatos sensores y motivarlos contra los puertos de fluido 1124.

A medida que se baja el mango 916, la estructura 1020 se acopla a la plataforma 902 y empuja hacia abajo la plataforma 902 y la bandeja 904 de los aparatos sensores 908. La plataforma 902 se impulsa a lo largo de un eje 1228 hasta que los puertos de fluido de los aparatos sensores 908 se acoplan con los puertos de fluido 1124 del colector de fluido 1022. Cuando el mango 916 se impulsa hacia arriba, la plataforma 902 se impulsa hacia arriba a lo largo del eje 1228, desconectando los aparatos sensores 908 de los puertos de fluido 1124. La plataforma 902 y los aparatos sensores 908 se pueden sacar de debajo de la abrazadera 914 mediante el uso del mango 910.

En un ejemplo particular de la descripción y no de la invención, el colector 900 forma parte de un aparato para acoplarse fluidamente a los puertos de fluido de los aparatos sensores y aplicar una o más soluciones reactivas a través de las celdas de flujo de los aparatos sensores, incluida una solución de sacáridos. Por ejemplo, como se ilustra en la Figura 14, un sistema de tratamiento 1400 incluye recipientes de reactivos 1402 conectados a un colector de fluidos 1404. El colector de fluido 1404 se conecta de manera fluida a los subcolectores 1406 que pueden, mediante el uso del aparato de tratamiento 900, aplicar fluido a través de las celdas de flujo de los aparatos sensores 1408. En un ejemplo particular, el fluido se puede impulsar o extraer de los contenedores de reactivos 1402 presurizando los contenedores o mediante el uso de bombas que extraen fluido de los contenedores 1402. El colector 1404 puede hacer fluir reactivos de manera selectiva desde los recipientes de reactivos 1402 a los subcolectores 1406. Luego, el fluido puede fluir a través del colector 1404 y el subcolector 1406 a través de las celdas de flujo de los aparatos sensores 1408 en función del control de las válvulas aguas abajo 1410. Cuando una de las válvulas 1410 se abre, el fluido puede fluir a través de las celdas de flujo de los aparatos sensores 1408 y hacia el contenedor de residuos 1412.

En un ejemplo de la descripción y no de la invención, cada una de las válvulas 1410 puede abrirse simultáneamente permitiendo un flujo continuo a través del sistema. Alternativamente, los aparatos sensores se pueden tratar individualmente haciendo fluir selectivamente un reactivo a través del colector 1404 y los subcolectores 1406 y selectivamente a través de uno o más de los aparatos sensores 1408 en función de la posición de las válvulas 1410 aguas abajo de los aparatos sensores 1408.

Por ejemplo, el sistema puede incluir solución de lavado, soluciones de tratamiento de limpieza ácidas o básicas y una solución de sacárido como se describió anteriormente. Por ejemplo, se puede aplicar una solución de lavado sobre uno o más aparatos sensores 1408. Los aparatos sensores pueden incluir perlas en pozos o pueden estar libres de perlas. Un aparato sensor puede tratarse mediante el uso de una solución de tratamiento con ácido o base. En un ejemplo de la descripción y no de la invención, el pretratamiento de los aparatos sensores puede influir en las concentraciones de grupos hidroxilo superficiales, influyendo en la señal asociada con la medición del pH. La superficie se puede estabilizar aplicando la solución de sacárido a través de la celda de flujo de los aparatos sensores y dejando un recubrimiento de sacárido sobre los electrodos sensores de los dispositivos sensores y, opcionalmente, sobre una perla. Los aparatos sensores 1408 pueden retirarse del aparato de tratamiento, secarse y empaquetarse, listos para su transporte y almacenamiento.

Como se describió anteriormente, los biosensores de superficie estabilizada se pueden lavar y usar para detectar objetivos biomoleculares o subproductos asociados. En particular, los biosensores, por ejemplo, los aparatos sensores, pueden lavarse como se describió anteriormente y aplicarse a un sistema de detección, como un sistema de secuenciación.

En un ejemplo, las perlas o partículas a las que se pueden unir biomoléculas se pueden aplicar a los biosensores para determinar las características de las biomoléculas. Las perlas se pueden aplicar después de lavar el recubrimiento de sacárido o antes del tratamiento con la solución de sacárido. En particular, los biosensores se pueden usar para secuenciar secuencias diana de proteínas o ácidos nucleicos conjugadas con las perlas o partículas amplificadas. Por ejemplo, la secuenciación puede incluir secuenciación de ADN sin marcaje y, en particular, secuenciación de ADN basada en el pH. Las perlas o partículas que incluyen moldes de ADN y que tienen un cebador y una polimerasa unidos operativamente se cargan en cámaras de reacción (como micro pozos del aparato sensor), después de lo cual se llevan a cabo ciclos repetidos de adición y lavado de desoxinucleósido trifosfato (dNTP). Alternativamente, una perla puede estar presente antes del lavado y los ácidos nucleicos diana pueden aplicarse a la perla. Dichos moldes normalmente se unen como poblaciones clonales a la perla o partícula, y dichas poblaciones clonales se cargan en cámaras de reacción. En cada etapa de adición del ciclo, la polimerasa extiende el cebador al incorporar dNTP agregado cuando la siguiente base en la plantilla es el complemento del dNTP agregado. Cuando hay una base complementaria, hay una incorporación, cuando hay dos, hay dos incorporaciones, cuando hay tres, hay tres incorporaciones, y así sucesivamente. Con cada incorporación de este tipo, se libera un ion de hidrógeno y, colectivamente, una población de plantillas libera iones de hidrógeno que provocan cambios muy leves en el pH local de la cámara de reacción, lo que es detectado por un sensor electrónico.

La Figura 15 ilustra esquemáticamente un aparato de la descripción y no de la invención para llevar a cabo la secuenciación de ácidos nucleicos basada en el pH. Cada sensor electrónico del aparato sensor genera una señal de salida que depende del valor de un voltaje de referencia. En la Figura 15, una carcasa 600 que contiene un circuito de fluidos 602 se conecta por entradas a los depósitos de reactivos 614, a un depósito de residuos 620 y a una celda de flujo 634 mediante un pasaje 632 que conecta un nodo de fluidos 630 a una entrada 638 de la celda de flujo 634. Los reactivos de los depósitos 614 pueden conducirse al circuito de fluidos 602 mediante una variedad de métodos que incluyen presión, bombas, como bombas de jeringa, alimentación por gravedad y similares, y se seleccionan mediante el control de las válvulas 650. Un sistema de control 618 incluye controladores para válvulas 650 que generan señales para abrir y cerrar a través de la conexión eléctrica 616. El sistema de control 618 también incluye controladores para otros componentes del sistema, como la válvula de solución de lavado 624 conectada al mismo por la línea de control 622 y un electrodo de referencia 628. El sistema de control 618 también puede incluir funciones de control y adquisición de datos para la celda de flujo 634. En un modo de operación, el circuito de fluidos 602 entrega una secuencia de reactivos seleccionados (1, 2, 3, 4 o 5) a la celda de flujo 634 bajo el control programado del sistema de control 618, de manera que, entre flujos de reactivos seleccionados, el circuito de fluidos 602 se ceba y se lava, y la celda de flujo 634 se lava. Los fluidos que ingresan a la celda de flujo 634 salen por una salida 640 y se depositan en un contenedor de desechos 636. A lo largo de dicha operación, las reacciones o mediciones que tienen lugar en la celda de flujo 634 tienen un voltaje de referencia estable porque el electrodo de referencia 628 tiene una ruta de electrolito continua, es decir, ininterrumpida, con la celda de flujo 634, pero está en contacto físico solo con la solución de lavado.

## Ejemplos

### Ejemplo 1

Los aparatos de secuenciación basados en pH (Ion Torrent™ Proton I) se tratan con diferentes soluciones que incluyen un sacárido o un polímero.

Los aparatos se preparan haciendo fluir una serie de soluciones de lavado a través de las celdas de flujo de los aparatos. Una solución que incluye 5 % en peso de ácido dodecibenzenosulfónico (DBSA) en undecano se hace fluir a través de la celda de flujo durante 1 minuto. Se hace fluir alcohol isopropílico a través de la celda de flujo para eliminar el DBSA en undecano. Se aplica agua a través de la celda de flujo seguida de una solución de NaOH 10 mM durante 2: 45 min. Se aplica agua a través de la celda de flujo seguida de alcohol isopropílico (IPA) y, posteriormente, gas nitrógeno.

Después del secado bajo nitrógeno, se aplica a través de la celda de flujo una solución acuosa que incluye 10 % en peso o 20 % en peso de un sacárido o polímero seleccionado. Los controles no se tratan. Los sacáridos se seleccionan de sacarosa, galactosa y trehalosa. El polímero se selecciona de un polímero de polietilenglicol (PEG 200 o PEG 1000), polipropilenglicol, un copolímero de bloques de óxido de etileno/óxido de propileno (Pluronic P65) y un polioliol (Pluronic F127). Después de la aplicación de la solución, la celda de flujo se lava con nitrógeno. Se observa la uniformidad del recubrimiento de las superficies de los aparatos. Los aparatos son una prueba adicional para la uniformidad de carga inicial de perlas y para la uniformidad de carga de perlas después del envejecimiento (calentamiento a 70°C durante 7 días). La carga de perlas se realiza en un Ion Torrent™ Ion Chef™ mediante el uso de kits Ion Torrent™ que incorporan el aparato de chip anterior.

Los aparatos tratados con sacarosa, galactosa y trehalosa demuestran una uniformidad deseable y una carga de perlas tanto inicial como envejecida, lo que proporciona una mejora con respecto al control. El polímero de polioliol demuestra una mejora similar con respecto a los controles. La solución de copolímero de óxido de etileno/óxido de propileno proporciona una carga de perlas similar o ligeramente mejor con relación al control. Los polímeros de PEG y propilenglicol proporcionan una carga de perlas menos deseable que el control.

### Ejemplo 2

Los aparatos de secuenciación basados en pH (ION Torrent Proton I) se tratan con soluciones de sacáridos que incorporan diferentes tensioactivos.

Los aparatos se preparan haciendo fluir una serie de soluciones de lavado a través de las celdas de flujo de los aparatos. Una solución que incluye 5 % en peso de ácido dodecibenzenosulfónico (DBSA) en undecano se hace fluir a través de la celda de flujo durante 1 minuto. Se hace fluir alcohol isopropílico a través de la celda de flujo para eliminar el DBSA en undecano. Se aplica agua a través de la celda de flujo seguida de una solución de NaOH 10 mM durante 2: 45 min. Se aplica agua a través de la celda de flujo seguida de alcohol isopropílico (IPA) y, posteriormente, gas nitrógeno.

Después del secado bajo nitrógeno, se aplica a través de la celda de flujo una solución acuosa de sacárido que incluye un 10 % en peso o un 20 % en peso de sacarosa y entre un 0,05 % y un 0,2 % en peso de un tensioactivo seleccionado. El tensioactivo se selecciona de 0,05 % en peso de un tensioactivo fluorado no iónico (Thetawet 8150), 0,02 % en peso de un tensioactivo no iónico (Triton X-100), 0,1 % en peso de un tensioactivo de polisacárido

de alquilo (Multitrope), 0,2 % en peso sulfosuccinato de dioctilo y sodio, o 0,2 % de un tensioactivo zwitteriónico (Anzergent 3-12). Después de la aplicación de la solución de sacáridos, la celda de flujo se lava con nitrógeno. Se observa la uniformidad del recubrimiento de las superficies de los aparatos.

5 Las soluciones de sacáridos que incluían sacarosa al 10 % en peso proporcionaron un recubrimiento más uniforme y menos rayas que las soluciones de sacáridos que incluían sacarosa al 20 % en peso. Cada uno de los tensioactivos tuvo efectos similares sobre la uniformidad. Pero el tensioactivo Triton X-100 produjo gotas de sacarosa en la tapa de la celda de flujo.

### 10 Ejemplo 3

Para evaluar la estabilidad de los casetes precargados en chips Ion Torrent™ 541, los chips (aparatos) se cargan previamente con perlas de poliacrilamida, se recubren con una solución de sacarosa y se sellan al vacío con desecante en una bolsa de aluminio.

15 Se carga un conjunto de 16 kits que incluyen chips Ion Torrent 541 (aparatos) y perlas de poliacrilamida asociadas centrifugando una solución que lleva las perlas en los aparatos durante 2 minutos, raspando con espuma y lavando y aspirando. Las perlas se conjugan con oligonucleótidos que actúan para capturar polinucleótidos diana y se extienden para hacer copias complementarias de los polinucleótidos diana.

20 La mitad de los aparatos se recubren con una solución de sacarosa que incluye 1431 g de H<sub>2</sub>O, 358 g de sacarosa y 3,5 g de Anzergent 3-12. Cada uno de los aparatos se coloca en una bandeja y se sella al vacío en una bolsa de aluminio para su almacenamiento.

25 Los aparatos se prueban a 1 día, 3 días y 10 días de almacenamiento. Los aparatos se lavan para eliminar el recubrimiento de sacarosa y se someten a amplificación para producir perlas conjugadas con polinucleótidos, que se secuencian.

30 Los aparatos del día 1, recubiertos con sacarosa o no, demuestran un rendimiento de secuenciación similar caracterizado por un porcentaje de carga, una señal clave y un rendimiento medio de q20 similares. Sin embargo, los aparatos del Día 3 que no se almacenaron con un recubrimiento de sacarosa demuestran un rendimiento de secuenciación significativamente reducido, mientras que los aparatos del Día 3 almacenados con un recubrimiento de sacarosa mantienen el rendimiento de secuenciación. Los aparatos del día 10 almacenados con un recubrimiento de sacarosa también mantienen el rendimiento de la secuenciación.

35 En un primer aspecto, un aparato sensor incluye un sustrato, un dispositivo semiconductor dispuesto sobre el sustrato y una tapa de celda de flujo. El dispositivo semiconductor incluye una matriz de sensores, incluyendo cada sensor un transistor de efecto de campo químico que tiene una estructura de electrodo de compuerta. El dispositivo semiconductor incluye además una estructura de electrodos de superficie que forma al menos parte de la estructura de electrodos de compuerta. El dispositivo semiconductor incluye además un recubrimiento de sacárido formado sobre cada estructura de electrodo de superficie del dispositivo semiconductor. La tapa de la celda de flujo está sobre el sustrato y define una celda de flujo entre la tapa de la celda de flujo y el sustrato. El recubrimiento de sacárido se configura para eliminarse antes del uso del aparato sensor.

45 En un ejemplo del primer aspecto, el aparato sensor incluye además una estructura de pozo definida sobre el dispositivo semiconductor y que define un pozo que expone la estructura del electrodo de superficie, el recubrimiento de sacárido formado al menos parcialmente dentro del pozo.

50 En un ejemplo adicional del primer aspecto y de los ejemplos anteriores, el aparato incluye además una perla dispuesta en el pozo, el recubrimiento de sacárido formado sobre la perla. En un ejemplo, la perla se conjuga con un ácido nucleico. En otro ejemplo, la perla es una perla de hidrogel. En otro ejemplo, la perla comprende un polímero seleccionado del grupo que consiste en agarosa; polietilenglicol; polioxibutileno; dietilacrilamida; polioxietileno; poliacrilamida; polioxipropileno; N,N-polidimetilacrilamida; poli(N-isopropilacrilamida); polivinilpirrolidona; poli-N-hidroxiacrilamida; y cualquiera de sus combinaciones. En un ejemplo particular, el polímero es poliacrilamida.

55 En otro ejemplo del primer aspecto y de los ejemplos anteriores, se puede acceder a la estructura del electrodo de superficie a través de la celda de flujo.

60 En un ejemplo adicional del primer aspecto y de los ejemplos anteriores, la estructura de electrodos de superficie incluye una estructura conductora y una capa sensora dispuesta sobre la estructura conductora. Por ejemplo, la capa sensora incluye una capa cerámica.

65 En otro ejemplo del primer aspecto y de los ejemplos anteriores, la estructura de electrodos de superficie incluye una estructura de compuerta flotante.

5 En otro ejemplo del primer aspecto y de los ejemplos anteriores, el recubrimiento de sacárido incluye un monosacárido, un disacárido, un polisacárido, un derivado del mismo o una de sus combinaciones. Por ejemplo, el monosacárido puede incluir glucosa, fructosa, galactosa o una de sus combinaciones. En un ejemplo adicional, el disacárido incluye sacarosa, trehalosa, maltosa o lactosa. Por ejemplo, el disacárido incluye sacarosa. En otro ejemplo, el disacárido incluye trehalosa. En otro ejemplo, el sacárido incluye hialuronano.

10 Tales métodos y dispositivos formados mediante el uso de tales métodos proporcionan ventajas técnicas relacionadas con una calidad de medición mejorada. Se ha descubierto que la calidad de la señal puede degradarse de manera variable, en dependencia de los factores asociados con el transporte y el almacenamiento. La reducción de la variabilidad en la calidad de la señal proporciona una medición de señal más uniforme que puede conducir a una detección de secuencia más precisa.

15 En particular, los dispositivos sensores basados en el pH, como los que se usan en la secuenciación basada en el pH, son sensibles a factores asociados con el transporte y el almacenamiento. Se cree que los grupos superficiales, como los grupos hidroxilo superficiales, influyen en la calidad de la señal y que la concentración de dichos grupos superficiales puede verse influida por factores asociados con el embalaje, el transporte y el almacenamiento, como la temperatura y la humedad. El sistema y los métodos propuestos prevén una menor variabilidad en la calidad de la señal.

20 Tenga en cuenta que no se requieren todas las actividades descritas anteriormente en la descripción general o en los ejemplos, que es posible que no se requiera una parte de una actividad específica y que se pueden realizar una o más actividades adicionales además de las descritas. Aún más, el orden en que se enumeran las actividades no es necesariamente el orden en que se realizan.

25 En la especificación anterior, los conceptos se han descrito con referencia a modalidades específicas. En consecuencia, la especificación y las figuras deben considerarse en un sentido ilustrativo más que restrictivo.

30 Como se usa en la presente descripción, los términos "comprende", "que comprende", "incluye", "incluyendo", "tiene", "que tiene" o cualquier otra variación de los mismos, pretenden cubrir una inclusión no exclusiva. Por ejemplo, un proceso, método, artículo o aparato que comprende una lista de características no está necesariamente limitado solo a esas características, sino que puede incluir otras características no enumeradas expresamente o inherentes a dicho proceso, método, artículo o aparato. Además, a menos que se indique expresamente lo contrario, "o" se refiere a un o inclusivo y no a un o exclusivo. Por ejemplo, una condición A o B se cumple con cualquiera de los siguientes: A es verdadero (o presente) y B es falso (o no presente), A es falso (o no presente) y B es verdadero (o presente), y tanto A como B son verdaderos (o presentes).

35 Además, el uso de "un" o "una" se emplea para describir elementos y componentes descritos en la presente descripción. Esto se hace simplemente por conveniencia y para dar una idea general del alcance de la invención. Esta descripción debe leerse para incluir uno o al menos uno y el singular también incluye el plural a menos que sea obvio que se entiende de otra manera.

40 Los beneficios, otras ventajas y soluciones a problemas se han descrito anteriormente con respecto a modalidades específicas. Sin embargo, los beneficios, las ventajas, las soluciones a los problemas y cualquier característica que pueda causar que ocurra o se vuelva más pronunciado cualquier beneficio, ventaja o solución no deben interpretarse como una característica crítica, requerida o esencial de cualquiera o todas las reivindicaciones.

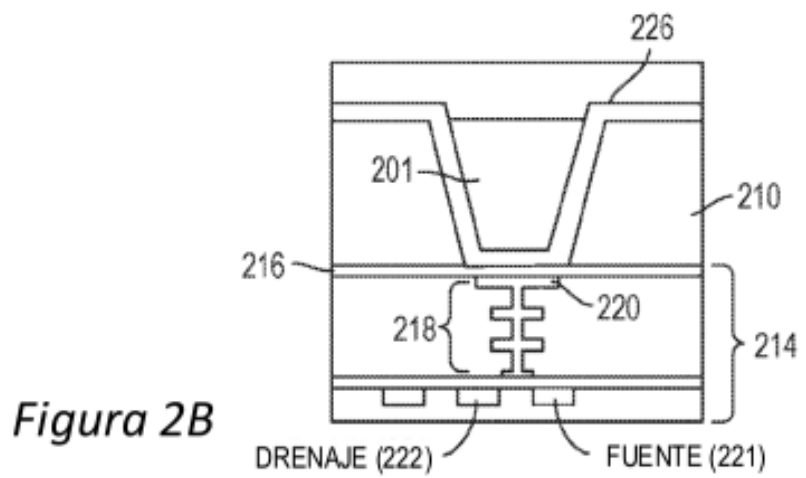
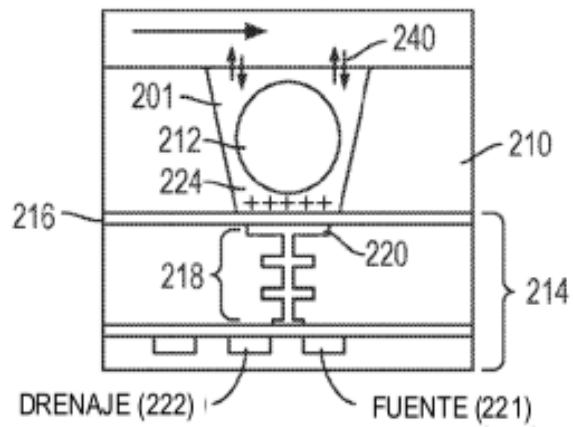
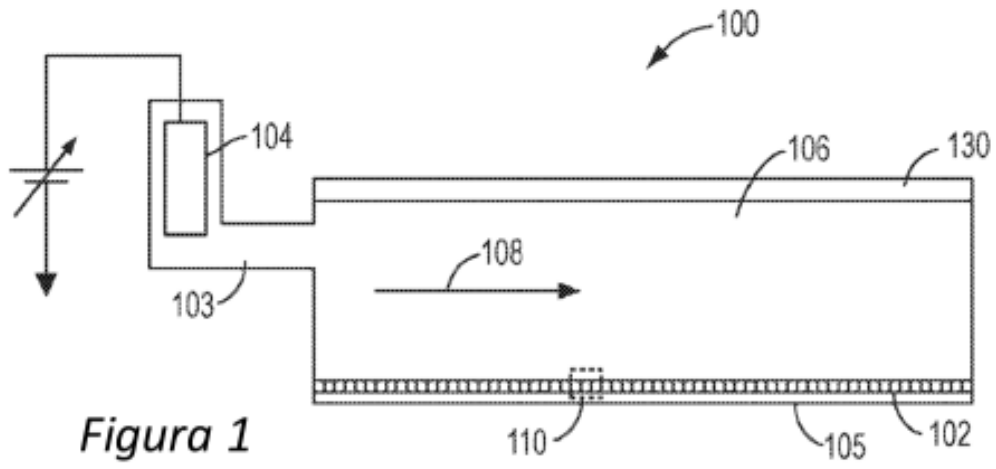
45 Después de leer la especificación, los expertos en la técnica apreciarán que ciertas características que, para mayor claridad, se describen en la presente descripción en el contexto de modalidades separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una única modalidad. A la inversa, diversas características que, por razones de brevedad, se describen en el contexto de una sola modalidad, también se pueden proporcionar por separado o en cualquier subcombinación. Además, las referencias a valores establecidos en intervalos incluyen todos y cada uno de los valores dentro de ese intervalo.

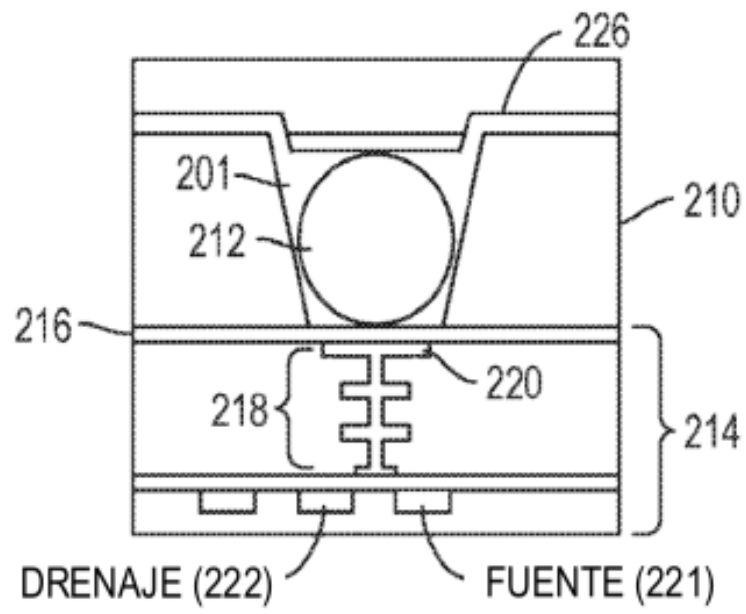
**REIVINDICACIONES**

1. Un aparato sensor empaquetado que comprende:
  - 5 un sustrato;  
un dispositivo semiconductor dispuesto sobre el sustrato, el dispositivo semiconductor que incluye:
    - una matriz de sensores, cada sensor incluye:
      - 10 un transistor de efecto de campo químico que tiene una estructura de electrodo de compuerta;  
y  
una estructura de electrodos de superficie que forma al menos parte de la estructura de electrodos de compuerta;
      - 15 un recubrimiento de sacárido formado sobre cada estructura de electrodo de superficie del dispositivo semiconductor; y
  - una tapa de celda de flujo sobre el sustrato y que define una celda de flujo entre la tapa de la celda de flujo y el sustrato; y
  - 20 en donde el recubrimiento de sacárido se configura para eliminarse antes del uso del aparato sensor.
2. El aparato sensor empaquetado de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el transistor de efecto de campo químico es un transistor de efecto de campo sensible a iones, con una compuerta flotante que tiene una placa sensora separada del interior por capas de metal, nitruro metálico u óxido metálico, o sus combinaciones; dicha placa sensora y las capas de metal, nitruro metálico y óxido metálico forman la estructura del electrodo de superficie.
- 25 3. El aparato sensor empaquetado de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que comprende además una estructura de pozo definida sobre el dispositivo semiconductor y que define un pozo que expone la estructura del electrodo de superficie, el recubrimiento de sacárido formado al menos parcialmente dentro del pozo.
- 30 4. El aparato sensor empaquetado de acuerdo con la reivindicación 3, que comprende además una perla dispuesta en el pozo, el recubrimiento de sacárido formado sobre la perla.
- 35 5. El aparato sensor empaquetado de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la perla se conjuga con un ácido nucleico.
6. El aparato sensor empaquetado de acuerdo con la reivindicación 4 o la reivindicación 5, en donde la perla es una perla de hidrogel.
- 40 7. El aparato sensor empaquetado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en donde la perla comprende un polímero seleccionado del grupo que consiste en agarosa; polietilenglicol; polioxibutileno; dietilacrilamida; polioxietileno; poliacrilamida; polioxipropileno; N,N-polidimetilacrilamida; poli(N-isopropilacrilamida); polivinilpirrolidona; poli-N-hidroxiacrilamida; y cualquiera de sus combinaciones,
- 45 8. El aparato sensor empaquetado de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el polímero es poliacrilamida.
9. El aparato sensor empaquetado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el recubrimiento de sacárido es un recubrimiento de conformación.
- 50 10. El aparato sensor empaquetado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 8, en donde el recubrimiento de sacárido llena el pozo.
- 55 11. El aparato sensor empaquetado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde la estructura de electrodos de superficie incluye una estructura conductora y una capa sensora dispuesta sobre la estructura conductora, opcionalmente en donde la capa sensora incluye una capa cerámica.
- 60 12. El aparato sensor empaquetado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde la estructura de electrodo de compuerta incluye una estructura de compuerta flotante.
13. El aparato sensor empaquetado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el recubrimiento de sacárido incluye un monosacárido, un disacárido, un polisacárido, un derivado del mismo o una de sus combinaciones.

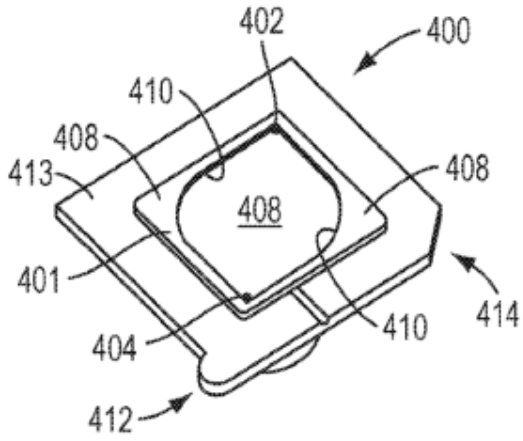
65

14. El aparato sensor empaquetado de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el monosacárido incluye glucosa, fructosa, galactosa o una de sus combinaciones.
- 5 15. El aparato sensor empaquetado de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el disacárido incluye sacarosa, trehalosa, maltosa o lactosa, opcionalmente en donde el disacárido incluye sacarosa o trehalosa.

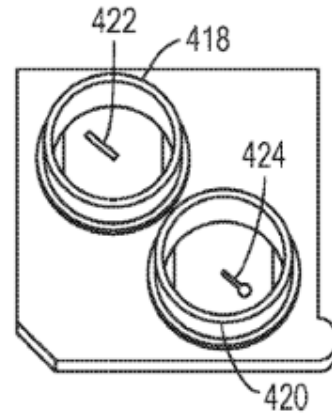




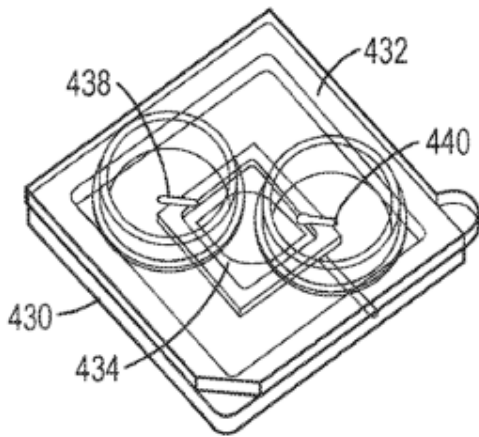
*Figura 2C*



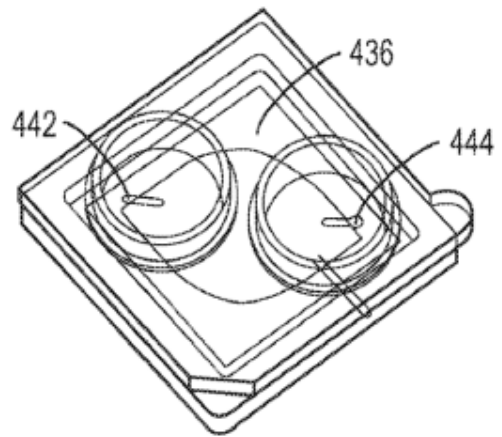
*Figura 3*



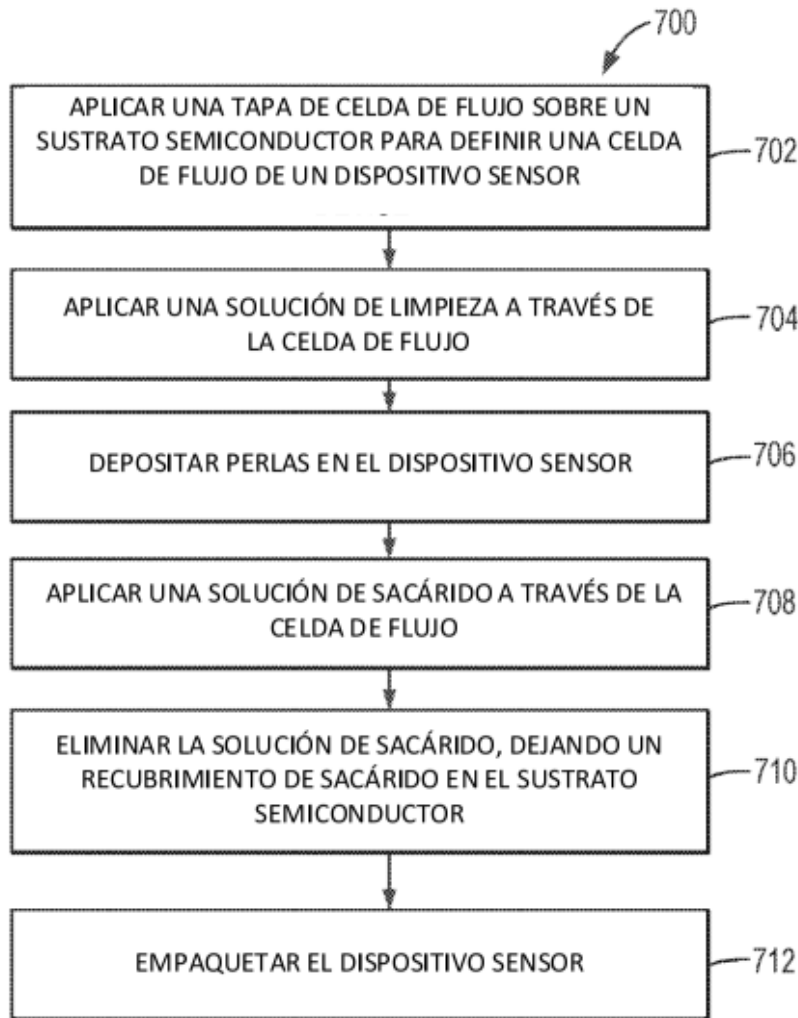
*Figura 4*



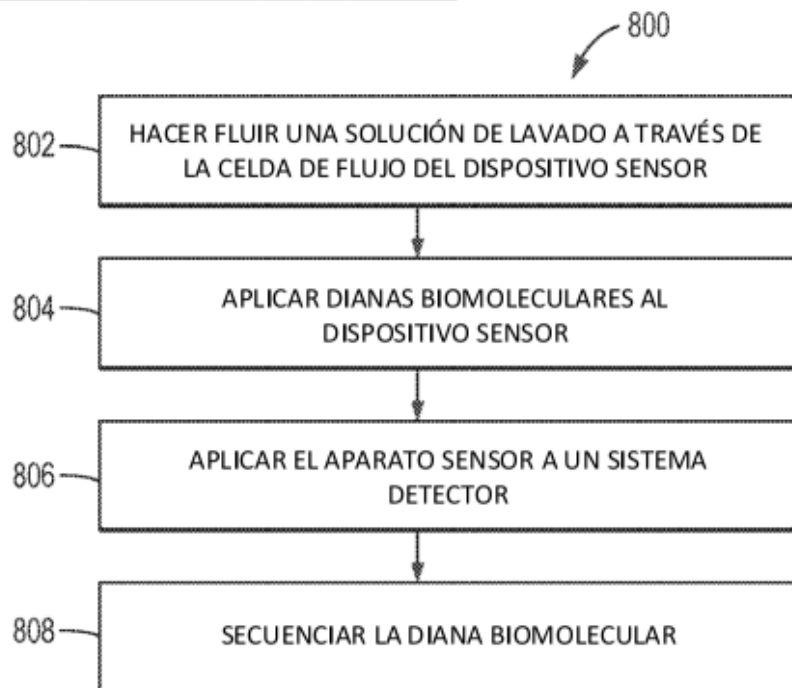
*Figura 5*



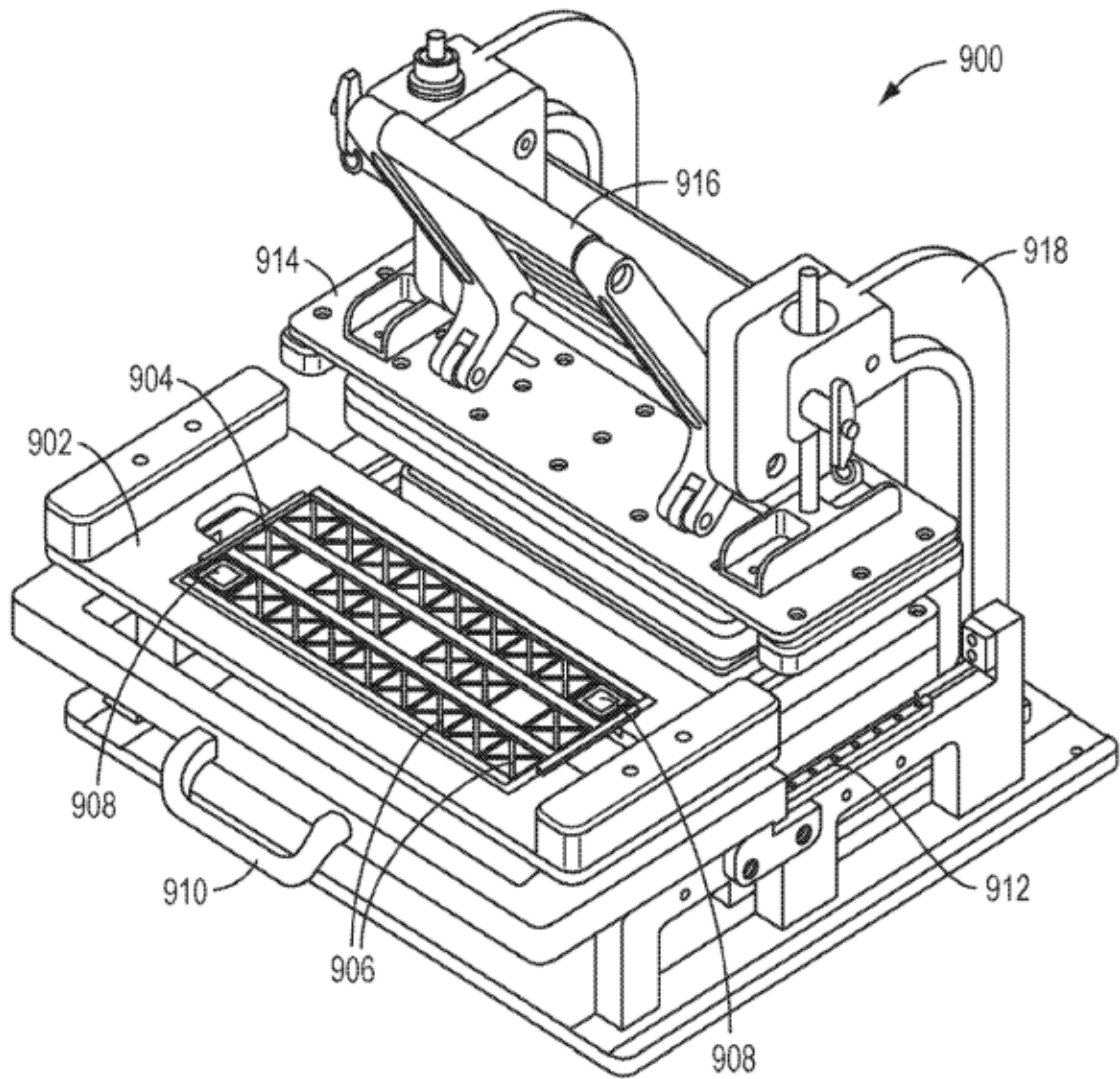
*Figura 6*



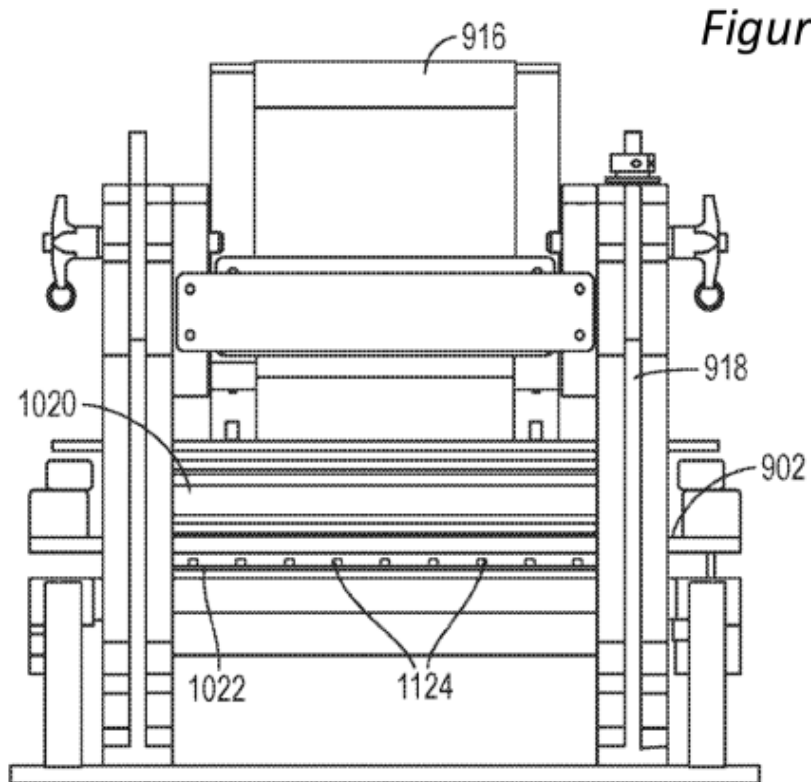
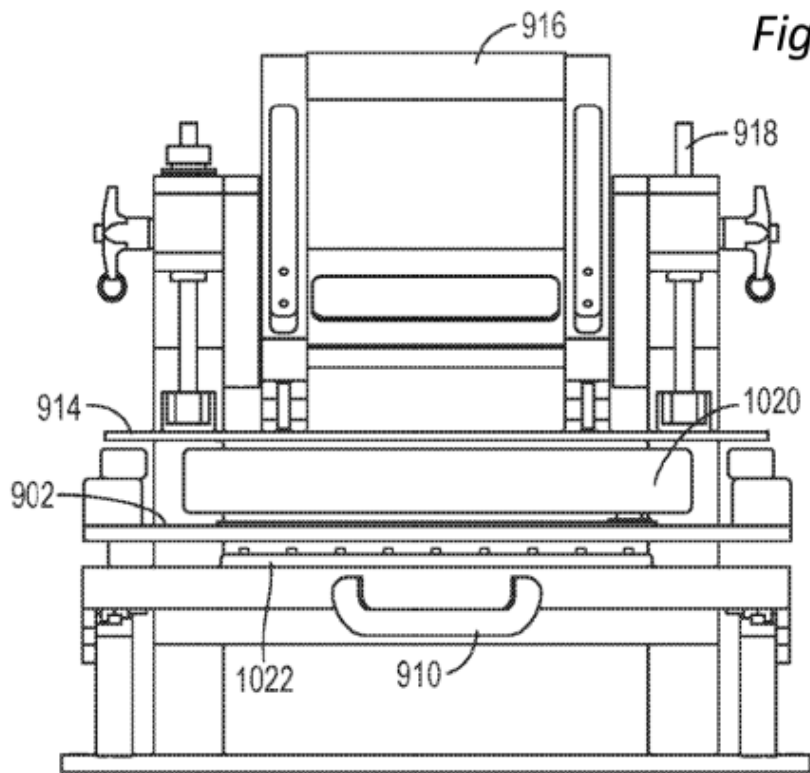
*Figura 7*



*Figura 8*



*Figura 9*



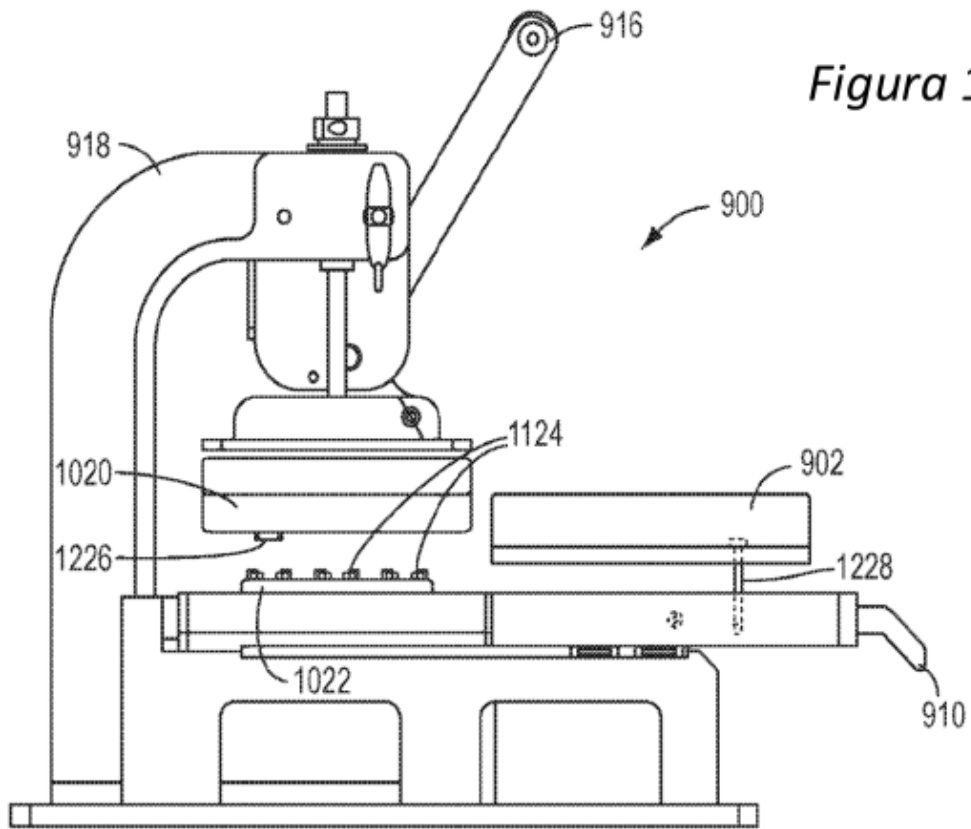


Figura 12

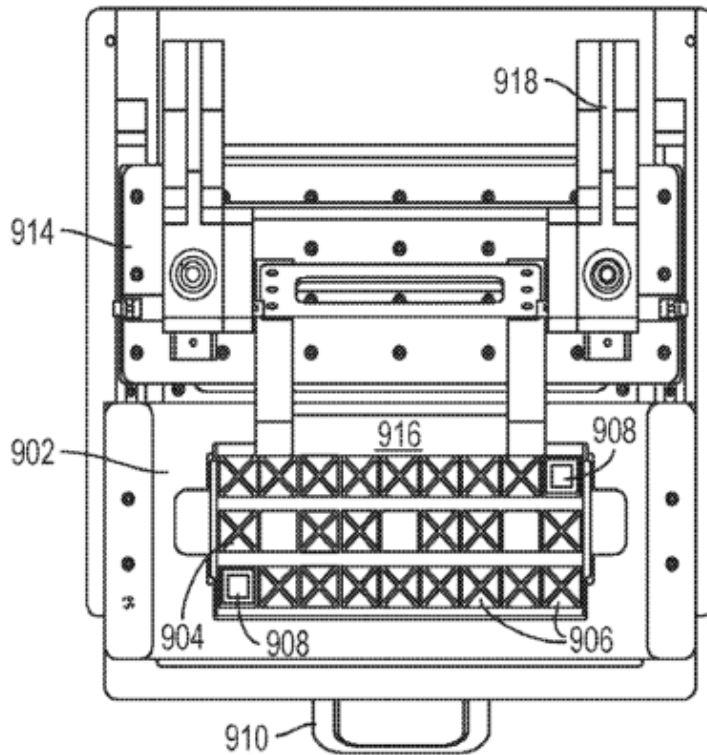
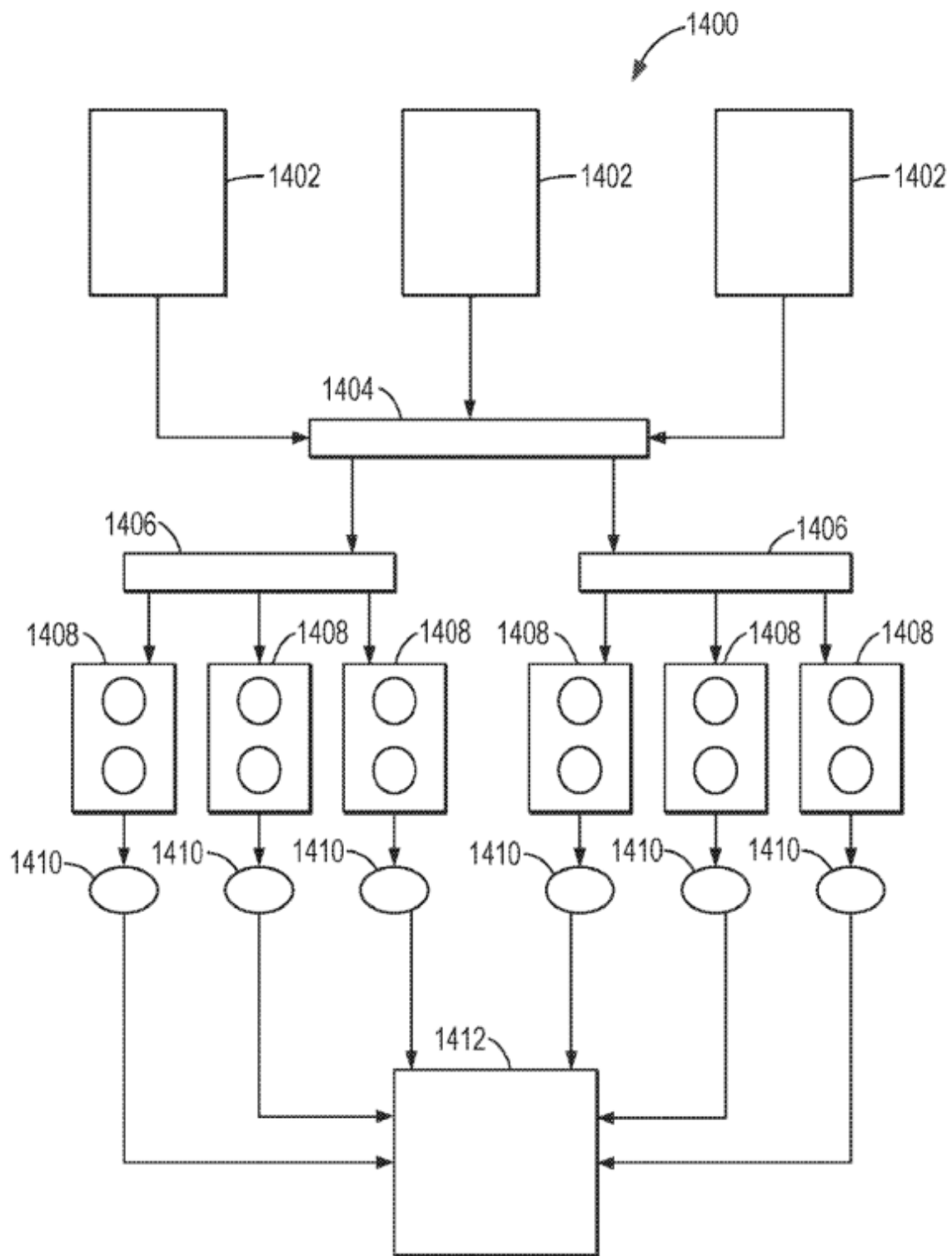


Figura 13



*Figura 14*

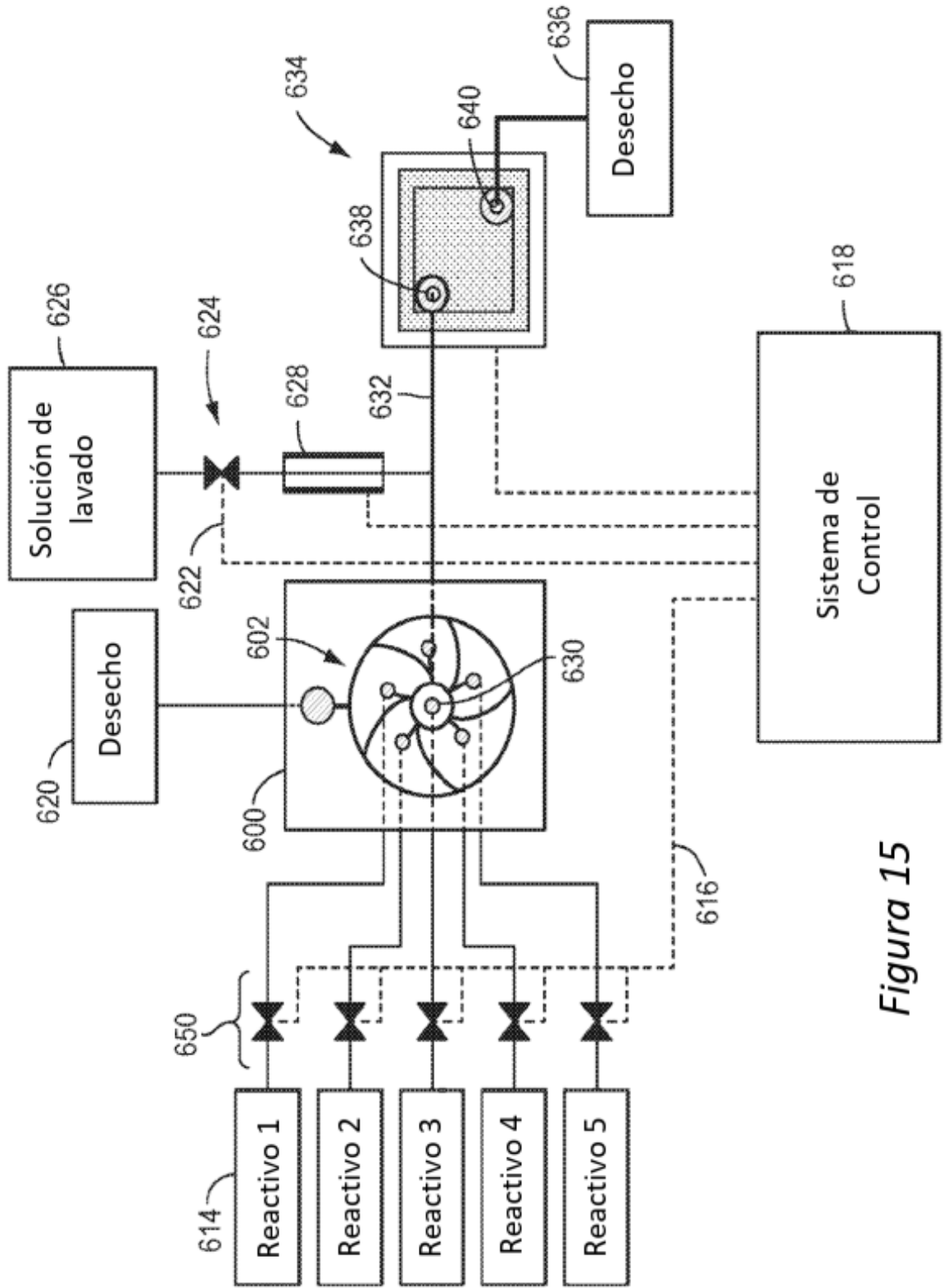


Figura 15