

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la
Propiedad Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
11 de mayo de 2018 (11.05.2018)

WIPO | PCT

(10) Número de publicación internacional
WO 2018/083365 A1

(51) Clasificación internacional de patentes:

G01N 21/25 (2006.01) C12Q 1/68 (2006.01)
B82Y 20/00 (2011.01) G02B 6/00 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:

PCT/ES2017/070731

(22) Fecha de presentación internacional:

03 de noviembre de 2017 (03.11.2017)

(25) Idioma de presentación:

español

(26) Idioma de publicación:

español

(30) Datos relativos a la prioridad:

P201631409 04 de noviembre de 2016 (04.11.2016) ES

(71) Solicitante: UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA [ES/ES]; Edificio Nexus (6G) - 3ª planta, Camí de Vera, s/n, 46022 Valencia (ES).

(72) Inventores: GARCÍA RUPÉREZ, Jaime; Universitat Politècnica de València, Edificio Nexus (6G) - 3ª planta, Camí de Vera, s/n, 46022 Valencia (ES). BAÑULS POLO, María José; Universitat Politècnica de València, Edificio Nexus (6G) - 3ª planta, Camí de Vera, s/n, 46022 Valencia (ES). MAQUIEIRA CATALÁ, Ángel; Universitat Politècnica de València, Edificio Nexus (6G) - 3ª planta, Camí de Vera, s/n, 46022 Valencia (ES). MARTÍ SENDRA, Javier; Universitat Politècnica de València, Edificio Nexus (6G) - 3ª planta, Camí de Vera, s/n, 46022 Valencia (ES).

(74) Mandatario: ILLESCAS TABOADA, Manuel; C/ Príncipe de Vergara, 197, Oficina 1º A, 28002 Madrid (ES).

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH,

(54) Title: DEVICE AND METHOD FOR PHOTONIC SENSING COMPRISING ELEMENTS FOR BIO-RECOGNITION WITH A CONFORMATIONAL CHANGE

(54) Título: DISPOSITIVO Y MÉTODO DE SENSADO FOTÓNICO QUE COMPRENEN ELEMENTOS DE BIORECONOCIMIENTO CON CAMBIO CONFORMACIONAL

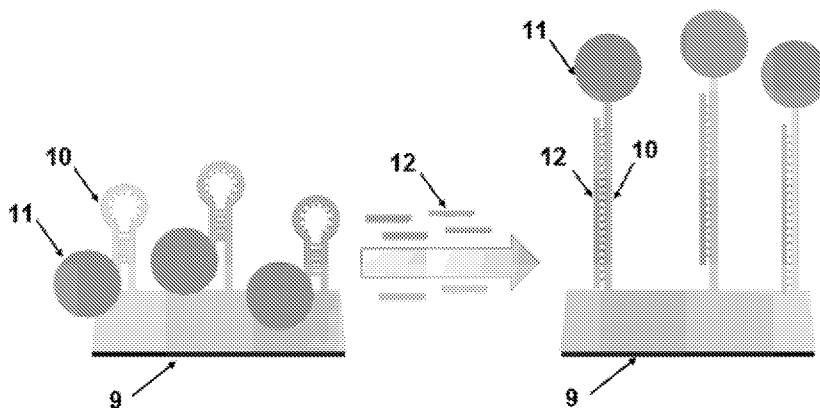


Figura 2

(57) Abstract: The invention relates to a device and a method for photonic sensing for the detection of analytes (12), comprising a photonic structure (9) as a transduction element and bio-recognition elements (10), tuned to the analytes (12) to be detected, wherein said bio-recognition elements (10) can undergo a conformational change when in the presence of the analytes (12), and have particles (11) attached of a size greater than that of the analytes (12), which are nano-sized and/or have a refractive index greater than 1.3.

(57) Resumen: La presente invención se refiere a un dispositivo y un método de sensado fotónico para la detección de analitos (12) que comprenden una estructura fotónica (9) como elemento de transducción y elementos de bioreconocimiento (10), afines a los analitos (12) a detectar; siendo dichos elementos de bioreconocimiento (10) capaces de experimentar un cambio conformacional al estar en presencia de los analitos (12) y teniendo fijadas partículas (11) de un tamaño mayor al de los analitos (12), del orden de nanómetros y/o un índice de refracción superior a 1.3.

[Continúa en la página siguiente]



WO 2018/083365 A1

KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA,
MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU,
RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH,
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA,
ZM, ZW.

(84) Estados designados (*a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

— *con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))*

**DISPOSITIVO Y MÉTODO DE SENSADO FOTÓNICO QUE COMPRENDEN
ELEMENTOS DE BIORECONOCIMIENTO CON CAMBIO CONFORMACIONAL**

CAMPO DE LA INVENCION

5

La presente invención se refiere a un método y un dispositivo de sensado fotónico destinado a la detección de sustancias específicas de interés (analitos).

10

El método y el dispositivo de la invención permiten, además, la amplificación de la señal producida por los eventos de sensado que se producen cuando se hace uso de estructuras fotónicas como elementos de transducción. Este método y dispositivo se basan en utilizar elementos de bioreconocimiento que experimenten un cambio conformacional al producirse un evento de sensado, de forma que este cambio conformacional se utilice para desplazar una partícula de alto índice de refracción y/o tamaño que estará fijada al propio elemento de bioreconocimiento. De este modo, los cambios conformacionales producidos por los eventos de sensado provocarán una mayor variación de la respuesta óptica del elemento fotónico de transducción en comparación con los mecanismos tradicionales de reconocimiento, consiguiendo así ser capaz de detectar concentraciones significativamente menores de analito, así como analitos con masa molecular reducida.

20

ESTADO DE LA TÉCNICA

25

Hoy en día resulta fundamental disponer de dispositivos o métodos de sensado que permitan medir de una manera rápida, eficiente y fiable un gran número de parámetros, como por ejemplo, temperatura, presión, intensidad de campo eléctrico, etc. Además de para la medida de dichas magnitudes físicas (para las que ya existen métodos de medida tremendamente maduros), el mayor interés se centra actualmente en el desarrollo de dispositivos o métodos de sensado para la detección, identificación y cuantificación de sustancias (a las que denominamos analito), como puedan ser gases, líquidos, proteínas, hormonas, bacterias o ADN, entre muchas otras. Estos dispositivos son los denominados biosensores, los cuales tienen aplicación en infinidad de campos, como por ejemplo, la investigación farmacéutica, el diagnóstico de enfermedades, la detección de contaminantes, o la guerra bacteriológica.

30

Un biosensor es un dispositivo analítico que estará formado básicamente por un elemento de bioreconocimiento, que se encarga de proporcionar selectividad frente al analito de interés, y de un elemento de transducción, el cual se encarga de generar una señal medible y

35

relacionada con la cantidad de analito para su detección y/o cuantificación.

Respecto a los elementos de bioreconocimiento, los más habituales son aquellos basados en afinidad, como son por ejemplo: anticuerpos, aptámeros u oligonucleótidos. Estos elementos de bioreconocimiento tienen una elevada afinidad frente a los analitos a los que son específicos, de forma que se utilizan estas interacciones para provocar un cambio de señal medible y cuantificable en el elemento de transducción del biosensor.

Respecto a los elementos de transducción, estos son sensibles a aquellos cambios que tienen lugar cuando se producen los eventos de reconocimientos indicados previamente. En función del tipo de cambios detectados se distinguen diferentes tipos de elementos de transducción, como por ejemplo, los electroquímicos, los piezoeléctricos o los ópticos/fotónicos, entre otros. Cada tecnología de transducción tiene sus ventajas e inconvenientes, lo que las puede hacer más adecuadas para unas aplicaciones u otras.

Independientemente del tipo de biosensor (i.e., del mecanismo de bioreconocimiento y del tipo de elemento de transducción) uno de los principales retos de estos es el ser capaz de detectar concentraciones extremadamente bajas de analito (e.g., por debajo de valores de nanogramo/mililitro, picomolar o femtomolar, etc.), ya que son esos intervalos de trabajo los realmente relevantes en determinadas aplicaciones de tremendo interés como por ejemplo el diagnóstico precoz de enfermedades (e.g., cáncer, Alzheimer, cardiovasculares) o la detección rápida de amenazas biológicas (e.g., toxinas, Ántrax). En estos casos en los que se tiene una mínima concentración del analito, el bajo número de interacciones que se producen entre los elementos de bioreconocimiento y los propios analitos que se quieren detectar apenas producirán un cambio sobre la respuesta del elemento de transducción, de forma que serán difícilmente detectadas.

Además de rebajar las concentraciones que pueden ser detectadas mediante los biosensores desarrollados, parte del interés actual se centra también en detectar analitos de masa molecular reducida (e.g., del orden de unos pocos kiloDalton o incluso por debajo del kiloDalton). De modo similar a lo que ocurre cuando se tiene una baja concentración de analito, el hecho de que los analitos tengan una baja masa molecular se traducirá en que el cambio que producirán sobre el elemento de transducción del biosensor será también muy pequeño, llegando incluso a ser indetectable por éste.

La solución habitual para estas limitaciones (i.e., la imposibilidad de detectar bajas concentraciones de analitos y/o analitos de masa molecular reducida) es mediante el uso de lo que se denominan marcadores. Mediante un tratamiento adecuado de la muestra que contiene el analito a detectar (generalmente este tratamiento se realiza en laboratorio), se consigue enlazar el marcador utilizado a dicho analito. Este marcador consiste en un material que presenta unas determinadas propiedades físicas, como por ejemplo, fluorescencia, radioactividad, etc., de modo que la detección del analito se realiza de una forma indirecta, midiendo dicha fluorescencia, radioactividad, etc. Sin embargo, el uso de marcadores para realizar el sensado plantea diversos problemas, como pueden ser, por ejemplo, la necesidad de realizar una preparación previa de la muestra a analizar (lo cual puede ser complejo y requerir de un tiempo elevado) o la dificultad para encontrar un método que fije los marcadores únicamente y de forma específica a los analitos que deseamos detectar.

Respecto a los elementos de transducción, una de las opciones que mayor interés despierta actualmente es la utilización de tecnología fotónica para su creación. En un biosensor basado en tecnología fotónica (también conocido como “dispositivo de sensado fotónico”) se hará uso del cambio que se produce en la respuesta óptica (i.e., para frecuencias en el rango óptico del espectro) del dispositivo fotónico para detectar el analito de interés. Una de las implementaciones más habituales de transductores fotónicos es aquella en la que la detección se basa en la monitorización del cambio que se produce en la respuesta de la estructura fotónica cuando se produce una variación del índice de refracción debido a la presencia del analito que se quiere detectar.

El uso de la tecnología fotónica para la implementación de sistemas de biosensado proporciona una serie de ventajas de enorme interés frente a otras tecnologías de transducción, como son la alta sensibilidad que proporcionan, el reducido tamaño de las estructuras que permitirá un alto nivel de integración, una respuesta rápida, la capacidad de realizar análisis sin necesidad de marcadores, la necesidad de volúmenes de muestra muy bajos para realizar el análisis o la posibilidad de usar técnicas de fabricación en masa procedentes del campo de la microelectrónica para la fabricación con bajo coste de dispositivos integrados de sensado fotónico.

De forma habitual, el cambio espectral que se utiliza para llevar a cabo el sensado fotónico se basa en monitorizar el desplazamiento de la respuesta espectral de la estructura de sensado cuando se producen los eventos de sensado. Esto es lo que se hace por ejemplo para algunas estructuras típicas de sensado basadas en tecnología fotónica integrada como son las

estructuras resonantes basadas en anillos o discos [1-2], o los cristales fotónicos (o de forma general, estructuras dieléctricas periódicas) [3-4]. En ambos casos, la presencia del analito que se quiere detectar provocará un cambio de la distribución dieléctrica de la estructura, lo que se traducirá en un desplazamiento de las resonancias en las estructuras resonantes, o de la banda prohibida fotónica y/o de las bandas guiadas para el caso de los cristales fotónicos o las estructuras dieléctricas periódicas.

Existen, adicionalmente, otras estructuras fotónicas integradas que permiten realizar funciones de sensado utilizando directamente la amplitud de salida de una señal de una determinada longitud de onda, de forma que no resulta necesario monitorizar continuamente el espectro de transmisión del dispositivo. Ejemplos de este tipo de sistemas de sensado, basados en la amplitud, son los interferómetros Mach-Zehnder [5] o los acopladores direccionales [6]. A pesar de que dichos sistemas son capaces de proporcionar dispositivos de sensado más sencillos, llevan consigo el problema de que necesitan dimensiones del dispositivo muy grandes (del orden de varios milímetros o centímetros) para tener una interacción entre el campo y el analito que sea suficiente para realizar la detección, limitando así el nivel de integración que se puede conseguir en estructuras compactas.

Pese a que los resultados reportados por diversos grupos de investigación demuestran el gran potencial de la tecnología fotónica de sensado para la detección de bajas concentraciones de analito [7-12], existe todavía la necesidad de desarrollar implementaciones de biosensores fotónicos que permitan alcanzar límites de detección del orden del picogramo/mililitro, picomolar o incluso inferiores (siempre dependiendo del tipo de analito a detectar), de una forma rápida y sencilla haciendo uso de estructuras fotónicas de sensado compactas.

En este contexto, el método y dispositivo de amplificación de sensado fotónico propuesto en la presente invención permite incrementar el efecto que la interacción entre el elemento de bioconocimiento y el analito tienen sobre la estructura fotónica de sensado, de forma que permita reducir de forma significativa el límite de detección alcanzable (i.e., detectar menores concentraciones del analito, del orden de picogramo/mililitro, picomolar o incluso inferiores, dependiendo del tipo de analito a detectar), así como permitir la detección de todo tipo de analitos difícilmente detectables con las técnicas disponibles actualmente (por ejemplo y sin carácter limitativo, biomarcadores de baja masa molecular, pesticidas y microARNs). Esta amplificación de los eventos de sensado se llevará a cabo sin la necesidad de realizar ninguna preparación especial de la muestra a analizar (e.g., marcaje, amplificación por reacción en

cadena de la polimerasa, etc.), de forma que se podrán obtener sistemas finales más sencillos, fáciles de usar, compactos y económicos. Además, al consistir este método y dispositivo en una implementación especial del elemento de bioreconocimiento utilizado, podrá ser utilizado con cualquier estructura de sensado fotónico en la que el mecanismo de detección se base en el cambio de respuesta que ocurre al producirse un cambio en la distribución dieléctrica de la estructura. Este método y dispositivo también podría ser aplicable a otras metodologías de sensado donde la detección se base en las variaciones de la distribución dieléctrica, como es el caso de los sensores plasmónicos.

10 Referencias citadas:

[1] De Vos, K., Bartolozzi, I., Schacht, E., Bienstman, P., Baets, R., "Silicon-on-Insulator microring resonator for sensitive and label-free biosensing", (2007) Optics Express, 15 (12), pp. 7610-7615.

[2] McClellan, M.S., Domier, L.L., Bailey, R.C., "Label-free virus detection using silicon photonic microring resonators", (2012) Biosensors and Bioelectronics, 31 (1), pp. 388-392.

[3] García-Rupérez, J., Toccafondo, V., Banuls, M.J., Castelló, J.G., Griol, A., Peransi-Llopis, S., Maquieira, A., "Label-free antibody detection using band edge fringes in SOI planar photonic crystal waveguides in the slow-light regime", (2010) Optics Express, 18 (23), pp. 24276-24286.

[4] Castelló, J.G., Toccafondo, V., Escorihuela, J., Bañuls, M.J., Maquieira, A., García-Rupérez, J., "Real-time observation of antigen-antibody association using a low-cost biosensing system based on photonic bandgap structures", (2012) Optics Letters, 37 (17), pp. 3684-3686.

[5] Sepúlveda, B., Snchez Del Río, J., Moreno, M., Blanco, F.J., Mayora, K., Domínguez, C., Lechuga, L.M., "Optical biosensor microsystems based on the integration of highly sensitive Mach-Zehnder interferometer devices", (2006) Journal of Optics A: Pure and Applied Optics, 8 (7), pp. S561-S566.

[6] Luff, B.J., Harris, R.D., Wilkinson, J.S., Wilson, R., Schiffrin, D.J., "Integrated-optical directional coupler biosensor", (1996) Optics Letters, 21 (8), pp. 618-620.

[7] Huertas, C.S, Fariña, D., Lechuga, L.M., "Direct and Label-Free Quantification of Micro-RNA-181a at Attomolar Level in Complex Media Using a Nanophotonic Biosensor", (2016) ACS Sensors, 1, pp. 748-756.

5 [8] Soler, M., Estevez, M.-C., Villar-Vazquez, R., Casal, J.I., Lechuga, L.M., "Label-free nanoplasmonic sensing of tumor-associate autoantibodies for early diagnosis of colorectal cancer", (2016) Analytica Chimica Acta, 930, pp. 31-38.

[9] Washburn, A.L., Shia, W.W., Lenkeit, K.A., Lee, S.-H., Bailey, R.C., "Multiplexed cancer
10 biomarker detection using chip-integrated silicon photonic sensor arrays", (2016) Analyst, 141 (18), pp. 5358-5365.

[10] Wade, J.H., Alsop, A.T., Vertin, N.R., Yang, H., Johnson, M.D., Bailey, R.C., "Rapid, Multiplexed Phosphoprotein Profiling Using Silicon Photonic Sensor Arrays", ACS Central
15 Science (2015), 1(7), 374-382.

[11] Chistiakova, M.V., Shi, C., Armani, A.M., "Label-free, single molecule resonant cavity detection: A double-blind experimental study", (2015) Sensors (Switzerland), 15 (3), pp. 6324-6341.

20 [12] Mehrabani, S., Maker, A.J., Armani, A.M., "Hybrid integrated label-free chemical and biological sensors", (2014) Sensors (Switzerland), 14 (4), pp. 5890-5928.

OBJETO DE LA INVENCION

25 Un objeto de la presente invención es obtener dispositivos de sensado fotónico de alta sensibilidad (caracterizada por unos límites de detección del orden de picogramo/mililitro, picomolar o incluso inferiores, dependiendo del tipo de analito a detectar) mediante el uso de elementos de reconocimiento en los que el proceso de detección del analito de interés
30 producirá un cambio conformacional que provoque un mayor efecto sobre la estructura fotónica de sensado respecto al que produciría el propio evento tradicional de reconocimiento receptor-analito.

Otro objeto de la presente invención es obtener dispositivos de sensado fotónico de alta
35 sensibilidad en los que se consiguen bajos límites de detección (del orden de

picogramo/mililitro, picomolar o incluso inferiores, dependiendo del tipo de analito a detectar) sin la necesidad de utilizar ningún proceso de preparación de muestra complejo como el marcado o la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa, reduciendo así la complejidad, el tamaño y el coste de los elementos de análisis finales.

5

Otro objeto de la presente invención es la obtención de dispositivos de sensado fotónico de alta sensibilidad en los que el elemento de reconocimiento es del tipo baliza molecular, aptámero o equivalente, con una partícula fijada a ellos, la cual será desplazada para producir una amplificación del evento de reconocimiento.

10

Otro objeto de la presente invención es la obtención de dispositivos de sensado fotónico de alta sensibilidad en los que la partícula unida al elemento de reconocimiento, la cual cambiará su posición al producirse el evento de reconocimiento, podrá ser tanto de tipo dieléctrico, metálico o biológico.

15

Otro objeto de la presente invención es la obtención de dispositivos de sensado fotónico de alta sensibilidad en los que los eventos de reconocimiento, y por tanto el desplazamiento de las partículas fijadas a los elementos de reconocimiento, se produzca tanto en la parte externa de las estructuras fotónicas de sensado, como en su parte interna en el caso de trabajar, por ejemplo, con estructuras porosas.

20

Otro objeto de la presente invención es la obtención de dispositivos de sensado fotónico de alta sensibilidad en los que se produce un efecto de amplificación del cambio espectral debido al cambio conformacional de los elementos de bioreconocimiento utilizados, pero en los que el rango de frecuencias de trabajo no es exclusivamente el óptico.

25

Otro objeto de la presente invención es la obtención de dispositivos de sensado fotónico de alta sensibilidad en los que el cambio conformacional de los elementos de bioreconocimiento utilizados incluye su ruptura, de forma que ésta provocará la liberación de la partícula unida al elemento de transducción a través del elemento de bioreconocimiento.

30

Otras características de la presente invención se desprenderán de la descripción detallada que sigue, junto con una realización preferida de su objeto.

35

A efectos de la presente invención, se definen los siguientes términos:

- Evento de sensado: proceso de detección de analitos en el que, salvo que se diga lo contrario, se emplea un dispositivo y/o un método según la invención.

- Elemento de transducción o transductor: elemento encargado de convertir los eventos de sensado en una señal medible. Para el caso de esta invención estaremos considerando un transductor de tipo óptico/fotónico en el que el sensado se basa en detectar las variaciones producidas en la respuesta de la estructura cuando se produce una variación de la distribución eléctrica.

- Elementos de bioreconocimiento, receptores o bioreceptores: elementos que se combinan con el transductor para que interaccionen de forma específica con los analitos a detectar, de forma que esta interacción produzca una señal medible por el transductor. En el caso de esta invención se consideran elementos de bioreconocimiento que experimentan un cambio conformacional al producirse la detección del analito.

- Analito: Sustancia objeto del sensado, presentada en estado sólido, líquido o gaseoso.

- Cambio conformacional: cambio en la disposición espacial de un elemento de bioreconocimiento, causado por la combinación de dicho elemento de bioreconocimiento con el analito.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las figuras 1a, 1b y 1c describen de forma esquemática el funcionamiento de un dispositivo de sensado fotónico, provisto de un elemento de transducción con una banda prohibida fotónica.

La figura 1a representa el estado inicial del espectro de transmisión (Y) de una señal en función de la longitud de onda (X) a través de una estructura que presenta una banda prohibida fotónica.

La figura 1b representa el espectro de transmisión (Y) de una señal en función de la longitud de onda (X) a través de una estructura que presenta una banda prohibida fotónica, una vez se han producido los eventos de sensado que se quieren detectar.

La figura 1c muestra la evolución de la posición espectral de la característica espectral que se está monitorizando (Y') en función del tiempo (X') para el caso de un sensor fotónico genérico, considerando tanto la fase de sensado como las etapas anterior y posterior a éste

La figura 2 muestra de forma esquemática el funcionamiento de un dispositivo de sensado fotónico según la presente invención. En la realización mostrada, se utilizan balizas moleculares como elementos de bioreconocimiento, cada una de las cuales tiene uno de sus extremos fijado sobre la superficie del elemento fotónico de transducción y una partícula de gran tamaño y/o alto índice fijada en el otro extremo.

Las figuras 3a, 3b y 3c muestran de forma esquemática diversos elementos fotónicos de transducción que pueden ser utilizados en la presente invención. La figura 3a muestra un anillo resonante acoplado a una guía de acceso, la figura 3b muestra una estructura dieléctrica periódica unidimensional y la figura 3c muestra una estructura dieléctrica periódica bidimensional.

La figura 4 muestra los diferentes parámetros físicos que definen al elemento fotónico de transducción descrito en la figura 3c.

La figura 5 es una gráfica que representa la transmisión normalizada frente a la longitud de onda correspondiente a un procedimiento de sensado fotónico utilizando el elemento de transducción mostrado en la figura 3c.

La figura 6 describe de forma esquemática una realización preferida de la presente invención. En esta realización preferida, los elementos de bioreconocimiento basados en balizas moleculares unidas a partículas de gran tamaño y/o alto índice son inmovilizados sobre la superficie de una estructura de sensado basada en el fenómeno de banda prohibida fotónica.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Un primer aspecto de la invención se refiere a un dispositivo de sensado fotónico para la detección de analitos que comprende un elemento de transducción en la forma de una estructura fotónica y elementos de bioreconocimiento afines a los analitos a detectar. Dicho dispositivo de sensado fotónico está caracterizado porque los elementos de bioreconocimiento sufren un cambio conformacional al estar en presencia del analito a detectar y porque dichos elementos de bioreconocimiento tienen fijadas partículas de un tamaño mayor al de los analitos a detectar, del orden de nanómetros, y/o valores del índice de refracción superiores a 1.3.

El dispositivo de sensado fotónico según la invención permite la detección de analitos con alta sensibilidad, mediante el uso de elementos de bioreconocimiento que experimenten un cambio conformacional (i.e., un cambio en su disposición espacial) al producirse la detección del analito deseado, de forma que este cambio conformacional provoque el desplazamiento de partículas fijadas a los propios elementos de bioreconocimiento.

El desarrollo de dicho dispositivo de sensado fotónico, aprovecha las propiedades físicas de las estructuras fotónicas de sensado basadas en desplazamiento espectral. En estas estructuras fotónicas de sensado, su respuesta espectral en transmisión o reflexión dependerá de la configuración dieléctrica de los materiales que componen la estructura empleada, por lo que, cualquier variación en esa composición dieléctrica se traducirá en una variación de la respuesta espectral, lo cual habitualmente se traducirá así mismo en un desplazamiento espectral. Por tanto, monitorizando el desplazamiento en frecuencia (o en longitud de onda) experimentado por la respuesta espectral de la estructura fotónica de sensado seremos capaces de detectar la presencia (y cantidad) de los analitos de interés.

El cambio conformacional que se produce en los elementos de bioreconocimiento debido a la interacción con el analito, provoca que las partículas con alto índice de refracción (superior a 1.3) o con mayor tamaño (del orden de nanómetros) -que están fijadas a dichos elementos de bioreconocimiento- se desplacen con respecto a su posición original o nativa (en ausencia de analito). Esto modifica adicionalmente la distribución dieléctrica de la estructura fotónica, amplificando el desplazamiento espectral que se produce debido a la presencia del analito.

Gracias a este efecto de amplificación, los dispositivos según la presente invención tienen una mayor sensibilidad en el sensado fotónico que los dispositivos basados en mecanismos de reconocimiento tradicionales, siendo ésta de hasta varios órdenes de magnitud, en función de la configuración específica de los elementos de bioreconocimiento usados, por ejemplo y sin carácter limitativo, de dos órdenes de magnitud.

En una realización de la invención, los elementos de bioreconocimiento son balizas moleculares.

Las balizas moleculares (molecular beacons en inglés) son sondas moleculares que, en su estado nativo (i.e., en ausencia de analito), tienen forma de horquilla y están provistas de dos extremos entre los que cuales está dispuesta una secuencia específica, complementaria al analito que se desea detectar.

En presencia de analito, por el contrario, las secuencias específicas de las balizas moleculares hibridan con secuencias complementarias del analito adoptando una posición estirada. Este cambio conformacional sufrido por las balizas moleculares modifica la posición relativa de las partículas unidas a dichas balizas moleculares, con respecto a la posición que mantenían en ausencia del analito. Esto genera un cambio en la distribución dieléctrica de la estructura fotónica que provoca, a su vez, un cambio en su respuesta espectral permitiendo la detección de los analitos con una mayor sensibilidad.

Es importante señalar que las balizas del estado de la técnica se utilizan para la detección de analitos por análisis de fluorescencia. Para ello, uno de sus extremos está unido a una partícula fluorescente, mientras que el otro está unido a un inhibidor de la fluorescencia. En el estado nativo, dichas balizas moleculares tienen forma de horquilla, de modo que las partículas fluorescentes están enfrentadas a los inhibidores de la fluorescencia y muy próximas a éstos, lo que evita la aparición de fluorescencia. En presencia de analito, por el contrario, las secuencias específicas de las balizas moleculares hibridan con secuencias complementarias del analito, adoptando una posición estirada. Esto hace que las partículas fluorescentes se alejen de los inhibidores de fluorescencia, de forma que estos últimos ya no pueden evitar que aparezca fluorescencia.

Las balizas moleculares de uso en la presente invención son, por tanto, distintas de las usadas en la técnica anterior (carecen de partículas fluorescentes y de inhibidores de la fluorescencia) y se utilizan en procedimientos de sensado diferentes (de tipo fotónico). En dichos procedimientos fotónicos no se detecta ninguna fluorescencia, sino que se miden cambios en la respuesta espectral de una estructura de sensado fotónico causada por la modificación de su distribución dieléctrica debida, a su vez, a la eventual presencia de un analito.

En otra realización de la invención los elementos de bioreconocimiento son balizas moleculares con secuencias específicas de oligonucleótidos, de ADN, ARN, y/o microARN.

En otra realización de la invención, los elementos de bioreconocimiento son aptámeros. Los aptámeros son elementos de bioreconocimiento basados en cadenas sencillas de oligonucleótidos de ADN o ARN con una estructura 3D característica capaz de reconocer y unirse de manera específica y con elevada afinidad al analito diana.

En otra realización de la invención el cambio conformacional de los elementos de

bioreconocimiento provoca su ruptura, haciendo así que las partículas unidas a dichos elementos de bioreconocimiento sean liberadas del elemento de transducción al que están inicialmente inmovilizadas (i.e., en ausencia de analito).

- 5 Respecto a las partículas fijadas a los elementos de bioreconocimiento, éstas pueden ser tanto partículas dieléctricas con un tamaño del orden de nanómetros y una conductividad eléctrica menor que $0.1 \text{ S} \cdot \text{m}^{-1}$, partículas metálicas con tamaños del orden de nanómetros o moléculas biológicas con tamaños del orden de nanómetros y masa molecular superior a 10 KiloDalton. Su objetivo consiste en provocar una variación en la respuesta mayor a la que se
- 10 produce por el puro evento de sensado (reconocimiento bioreceptor-analito), las partículas a utilizar deberán tener un tamaño mayor al del propio analito a detectar y/o un alto índice de refracción (superior a 1.3), siendo el efecto de amplificación del evento de sensado mayor cuanto mayor sea el tamaño de la partícula y/o su índice de refracción. Respecto al caso del uso de una partícula metálica, su presencia también provocará la aparición de efectos
- 15 plasmónicos, los cuales se consideran equivalentes a los efectos de sensado fotónico considerados en esta invención. A los efectos de la presente invención, se entiende como efecto plasmónico a aquella señal producida en el interfaz entre materiales metálicos y dieléctricos y que también puede ser utilizada para realizar funciones de sensado.
- 20 Además, a los efectos de la presente invención se entiende que una partícula dieléctrica es aquella que posee una conductividad eléctrica menor que $0.1 \text{ S} \cdot \text{m}^{-1}$. Asimismo, se entiende que una partícula metálica es aquella formada por un elemento metálico puro, una aleación de elementos metálicos puros y/o un compuesto metálico. Por último, se entiende que una molécula biológica es aquella molécula que está presente o tiene un efecto en un organismo
- 25 vivo, por ejemplo y sin carácter limitativo, una proteína, un lípido, o un anticuerpo.

- Respecto a las estructuras fotónicas de sensado consideradas en esta invención, se consideran todas aquellas en las que el sensado se basa en el cambio de respuesta fotónica que se produce al variar la distribución dieléctrica del sistema. Esto incluye estructuras
- 30 típicamente usadas en el sensado fotónico como los resonadores (por ejemplo, anillos resonantes, como se muestra en la figura 3a), las estructuras de banda prohibida fotónica basadas en distribuciones periódicas unidimensionales (como se muestra en la figura 3b) o las estructuras de banda prohibida fotónica basadas en distribuciones periódicas bidimensionales (como se muestra en la figura 3c), pero también incluye otras estructuras
- 35 típicas para sensado fotónico como las cavidades resonantes en estructuras de banda

prohibida fotónica, las estructuras fotónicas basadas en guías de ranura, las estructuras interferométricas como las Mach-Zehnder, o los acopladores direccionales, entre muchas otras. Pero además, también será aplicable no sólo a configuraciones de estructuras fotónicas integradas creadas en sustratos planares, sino también aquellas estructuras fotónicas
5 basadas en otras configuraciones como por ejemplo estructuras multicapa, estructuras de sensado en fibra óptica, etc. que basen el sensado en la variación de respuesta óptica producida al cambiar la distribución dieléctrica de la estructura.

También en lo que se refiere a las estructuras fotónicas que se pueden utilizar en la presente
10 invención, no sólo se consideran aquellas en las que el evento de sensado detectado (i.e., la interacción entre los elementos de bioconocimiento y el analito) se produce en la superficie externa de la estructura fotónica considerada, ocurriendo así una interacción con el campo evanescente que se propaga por fuera de la propia estructura, sino también aquellas estructuras fotónicas en las que los eventos de sensado se producen en el interior de la propia
15 estructura, como cuando se usan materiales porosos.

Un segundo aspecto de la presente invención se refiere a un método de sensado fotónico, que comprende el uso de un dispositivo de sensado fotónico según la invención.

Esta invención describe, pues, un método y un dispositivo de sensado fotónico para la
20 detección de analitos con una alta sensibilidad en el que el desplazamiento de las partículas fijadas a los elementos de bioconocimiento producido por el cambio conformacional de estos últimos permitirá detectar concentraciones menores de los analitos, así como analitos de menor masa molecular. Este método y dispositivo será válido en todas aquellas
25 configuraciones de sensado basadas en la variación que se produce en la respuesta espectral de la estructura fotónica de sensado al tener lugar un cambio de la distribución dieléctrica de ésta, independientemente del tipo de estructura de sensado utilizada, del rango de frecuencias consideradas y del tipo de partículas utilizadas para fijarlas a los elementos de bioconocimiento.

30 REALIZACIONES PREFERIDAS DE LA INVENCION

A continuación, se describen varios ejemplos concretos de la invención haciendo referencia a las figuras adjuntas. En dichas figuras, los componentes con funciones iguales o similares
35 se han designado usando el mismo número de referencia.

El principio básico de funcionamiento de un dispositivo de sensado fotónico basado en desplazamiento espectral se muestra en las figuras 1a, 1b y 1c para el caso particular y genérico de una estructura de banda prohibida fotónica. Una estructura de banda prohibida fotónica (o *photonic band gap* del inglés, como se las conoce más habitualmente) es una estructura dieléctrica periódica la cual puede presentar regiones del espectro en las que no está permitida la propagación de ondas, región frecuencial a la que se conoce como banda prohibida fotónica. Tal y como se ha descrito previamente, la posición de dicha banda prohibida fotónica es dependiente de la distribución dieléctrica de la estructura, la cual cambiará al producirse los eventos de sensado. En la figura 1a se representa el estado inicial en el que se tiene el espectro de transmisión (Y) de la estructura de sensado considerada, el cual presenta una banda prohibida fotónica (1) que cubre un determinado rango de longitudes de onda (X); esta banda prohibida estará delimitada por dos bordes en los que se pasa de la banda de transmisión a la banda prohibida fotónica (2) y viceversa (3). En la figura 1b se representa el estado en el que se han producido los eventos de sensado del analito. La detección del analito provoca una variación del índice de refracción en la estructura fotónica, provocando a su vez un desplazamiento del espectro de transmisión (Y) de ésta respecto al mostrado en la figura 1a. En la figura 1b se puede ver cómo se ha producido un desplazamiento de la banda prohibida fotónica y por tanto un cambio en la posición de los bordes en los que se pasa de la banda de transmisión a la banda prohibida fotónica y viceversa, pasando de la posición (2) a la (4) y de la (3) a la (5) respectivamente. En la figura 1c se muestra la evolución de la posición espectral de la característica espectral que se esté monitorizando (Y') en función del tiempo (X'), la cual en este ejemplo podría ser la evolución de la posición del borde en el que se pasa de la banda de transmisión a la banda prohibida fotónica ((2) en figuras 1a y 1b) o la del borde en el que se pasa de la banda prohibida fotónica a la banda de transmisión ((3) en figuras 1a y 1b). En esta evolución se puede ver cómo la característica espectral monitorizada permanece en una determinada longitud de onda (o frecuencia) (6), de forma que al producirse los eventos de sensado se producirá un desplazamiento de la posición de la característica espectral (7) hasta llegar a una posición de desplazamiento máximo (8) determinada por el experimento concreto que se está realizando.

El desplazamiento experimentado por la respuesta espectral de una estructura de sensado fotónico, mostrado en (7) en la figura 1c, vendrá determinado, entre otros factores, por la concentración y por la masa molecular del analito a detectar. De esta forma en los dispositivos de la técnica anterior, aquellas situaciones en las que se tenga una concentración muy baja

del analito a detectar o aquellas en las que la masa molecular del analito sea muy reducida, provocarán desplazamientos espectrales extremadamente reducidos y que serán difícilmente detectables por el elemento de sensado.

- 5 El dispositivo de sensado fotónico según la invención permite, por el contrario, amplificar el desplazamiento espectral producido por la presencia de analito, mejorando la sensibilidad en el sensado fotónico.

El principio de funcionamiento de un dispositivo de sensado fotónico según la presente
10 invención se describe de forma esquemática en la figura 2.

Dicho dispositivo de sensado fotónico según la invención comprende, tal y como se muestra en la parte izquierda de la figura 2, una estructura fotónica de sensado (9) con elementos de bioreconocimiento (10) que tienen fijadas partículas (11).

15

Al pasar una muestra que contiene analitos (12) por dicho dispositivo de sensado fotónico, tal y como se ilustra en la parte derecha de la figura 2, la detección de estos analitos (12) por parte de los elementos de bioreconocimiento (10) producirá un cambio conformacional en el elemento de bioreconocimiento (10) que se traducirá en un cambio de la posición de las
20 partículas (11) fijadas a estos elementos de bioreconocimiento (10) respecto a la estructura fotónica de sensado (9). De esta forma, el evento de detección producido provocará un cambio en la distribución dieléctrica de la estructura fotónica de sensado (9), que conllevará una variación en la respuesta (i.e., un desplazamiento espectral) significativamente mayor al que se produciría mediante una estrategia convencional de reconocimiento bioreceptor-analito. Por tanto, mediante el método y el dispositivo de sensado propuesto en esta invención
25 será posible detectar concentraciones significativamente más bajas de analito y/o analitos con una masa molecular más reducida (de varios órdenes de magnitud en función de la configuración bioreceptor-partícula seleccionada) sin necesidad de llevar a cabo complejos procesos de preparación de muestra adicionales como el marcaje de los analitos o la
30 amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa.

La figura 3 muestra de forma esquemática diversas configuraciones de estructuras fotónicas de sensado (9) que pueden ser utilizadas con el dispositivo y método de amplificación descrito en esta invención. La figura 3a muestra un anillo resonante acoplado a una guía de acceso,
35 la figura 3b muestra una estructura dieléctrica periódica unidimensional y la figura 3c muestra

una estructura dieléctrica periódica bidimensional.

La figura 4 muestra una realización preferida de la invención en la que la estructura fotónica de sensado (9) es una estructura periódica unidimensional creada en silicio, sobre un
5 substrato inferior de óxido de Silicio, y que está inicialmente rodeada por aire. Se parte de una guía monomodo de altura $h = 220\text{nm}$ y anchura $w = 460\text{nm}$, en la que se introducen de forma periódica una serie de elementos transversales para formar la celda básica (15) que se replica de forma periódica. Los elementos transversales tienen unas dimensiones de $w_i = 140\text{nm}$ y $w_e = 2\mu\text{m}$. La entrada a la estructura fotónica se realiza por (13) y la salida se realiza por (14).
10 Seleccionando un periodo de $a = 360\text{nm}$ se consigue tener un borde entre la banda prohibida fotónica y la banda de transmisión para el espectro de transmisión normalizada (Y'') de los modos con polarización TE (definida dicha polarización como aquella para la cual el campo eléctrico tiene sus componentes en el plano de la estructura planar) situado aproximadamente a una longitud de onda (X'') de 1565nm , tal y como se muestra en la figura 5 con la referencia
15 (16). Al producirse los eventos de sensado que se quieren detectar, se producirá un desplazamiento del borde entre la banda prohibida fotónica y la banda de transmisión, tal y como se describía de forma esquemática en la figura 1. En cualquier caso, insistir en que la parte relevante de esta invención no se refiere a la propia estructura de sensado, ya que tal y como se ha indicado previamente sería válida cualquier estructura de sensado basada en la
20 detección de variaciones de índice de refracción, sino que la parte relevante de esta invención radica en la amplificación de los eventos de sensado gracias al uso de elementos de bioreconocimiento (10) que experimentan un cambio conformacional al producirse esos eventos, así como al hecho de que dichos elementos de bioreconocimiento (10) están unidos a partículas (11) que incrementan aún más el desplazamiento espectral al producirse un
25 evento de sensado.

La figura 5 representa la transmisión normalizada (Y''), expresada en dB, frente a la longitud de onda (X''), expresada en nanómetros, para la estructura fotónica de sensado (9) de la realización de la invención mostrada en la figura 4. En la respuesta espectral mostrada se
30 puede observar la presencia de un borde (16) en el que se pasa de la banda prohibida fotónica a la banda de transmisión de la estructura considerada.

La figura 6 describe de forma esquemática una realización preferida de la invención. En esta realización preferida, los elementos de bioreconocimiento (10) están basados en balizas
35 moleculares unidas a partículas (11) de gran tamaño (del orden de 6 nm de diámetro) y/o alto

índice de refracción (del orden de 2,5). Los elementos de bioreconocimiento (10) están inmovilizados sobre la superficie de una estructura fotónica de sensado (9) basada en el fenómeno de banda prohibida fotónica. Los elementos de bioreconocimiento (10) experimentarán un cambio conformacional al producirse la detección de analitos (12) basados en cadenas de oligonucleótidos, en este caso, microARNs.

La estructura fotónica de sensado será biofuncionalizada de forma que se inmovilicen sobre ella los elementos de bioreconocimiento (10) encargados de detectar los analitos de interés. En esta realización preferida los elementos de reconocimiento (10) son del tipo baliza molecular (o *molecular beacon* del inglés, como se las conoce más habitualmente). Dichos elementos (10) consisten en una cadena de oligonucleótidos sintetizados artificialmente que se caracterizan por tener una forma de horquilla en la que la zona del tallo (10a) (o *stem* del inglés, como se la conoce más habitualmente) se forma por la hibridación entre las 5-7 pares de bases complementarias que forman los extremos de la baliza molecular, dejando una zona de bucle (10b) (o *loop* del inglés, como se lo conoce más habitualmente) abierta a través de la que se producirá el reconocimiento del analito (12) que se quiere detectar, en este caso, una cadena de oligonucleótidos. Al producirse el reconocimiento del analito (12) por parte de la baliza molecular, el proceso de hibridación producirá un cambio conformacional que se traduce en una apertura del bucle (10b) y que alejará ambos extremos de la baliza molecular.

En esta realización preferida los elementos de bioreconocimiento (10) de tipo baliza molecular comprenden una región de bucle de unos 18-25 nucleótidos, una región tallo de 5-7 nucleótidos y un espaciador adicional (10c) en la terminación, de unos 10-15 nucleótidos, a través de la que se inmovilizan a la superficie de la estructura fotónica (9). A cada elemento de bioreconocimiento (10) de tipo baliza molecular se le unirá una partícula dieléctrica de alto índice (11) para provocar su desplazamiento. Esta unión se realizará a través de la terminación de la baliza molecular (10) que no tiene el espaciador adicional previamente comentado y que no será utilizada para inmovilizarla a la superficie. Se considera que estas partículas dieléctricas están compuestas de óxido de titanio, con un índice alrededor de $n \approx 2.5$ y con un diámetro de alrededor de 6nm.

Se utiliza la configuración previamente descrita de estructura fotónica de sensado, de baliza molecular (10) y de nanopartícula dieléctrica (11) de cara a detectar cadenas de oligonucleótidos de unas 22 bases; en concreto, se considera la detección de cadenas de microARN. La baja masa molecular y las concentraciones extremadamente bajas que son de interés para estos analitos dificulta de forma notable su detección directa haciendo uso de

estructuras fotónicas de sensado (y por lo general, mediante cualquier otro método de detección). Sin embargo, el uso de la configuración descrita previamente provocará que cuando el microARN sea detectado por la baliza molecular y ésta sufra el cambio conformacional descrito anteriormente (mostrado en la parte derecha de la figura 6), la nanopartícula (11) de alto índice será desplazada respecto de la estructura fotónica de sensado. Este efecto producirá un aumento significativo del cambio de señal a detectar respecto al caso en el que se considera un mecanismo de reconocimiento tradicional. Para el caso descrito de forma esquemática en esta realización preferida, se calcula que el evento de reconocimiento provoca un desplazamiento de la partícula dieléctrica de unos 15-20nm respecto a la superficie del dispositivo de sensado fotónico, lo que se traducirá, en esta realización específica de la invención, en un factor de amplificación de alrededor de 2 órdenes de magnitud sobre el efecto de sensado.

Este nivel de amplificación del efecto de sensado será dependiente de diversos parámetros como por ejemplo el tipo de analito a detectar (i.e., para analitos livianos, el efecto de amplificación por el cambio conformacional podrá ser superior), el índice de refracción y el tamaño de la partícula fijada al elemento de bioreconocimiento, la posición en la que se fija la partícula (10) al elemento de bioreconocimiento o la magnitud del desplazamiento de la partícula (10) que se produce por el cambio conformacional experimentado, entre otros.

REIVINDICACIONES

1.- Dispositivo de sensado fotónico para la detección de analitos (12) que comprende un elemento de transducción en la forma de una estructura fotónica (9) y elementos de bioreconocimiento (10), afines a los analitos (12) a detectar; caracterizado porque los elementos de bioreconocimiento (10) sufren un cambio conformacional al estar en presencia de los analitos (12) a detectar y porque dichos elementos de bioreconocimiento (10) tienen fijadas partículas (11) de un tamaño mayor al de los analitos (12), del orden de nanómetros, y/o un índice de refracción mayor que 1.3.

2.- Dispositivo de sensado fotónico según la reivindicación 1, en el que los elementos de bioreconocimiento (10) son balizas moleculares.

3. Dispositivo de sensado fotónico según la reivindicación 2, caracterizado porque los elementos de bioreconocimiento (10) son balizas moleculares con secuencias específicas de oligonucleótidos, de ADN, ARN, y/o de microARN.

4.- Dispositivo de sensado fotónico según cualquiera de las reivindicaciones 2 y 3, caracterizado porque los elementos de bioreconocimiento (10) son balizas moleculares provistas de una región tallo (10a) de 5-7 nucleótidos, una región de bucle (10b) de 18-25 nucleótidos y un espaciador adicional (10c), de unos 10-15 nucleótidos, inmovilizado a la superficie de la estructura fotónica (9).

5. Dispositivo de sensado fotónico según la reivindicación 1, caracterizado porque los elementos de bioreconocimiento (10) son aptámeros.

6.- Dispositivo de sensado fotónico según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la interacción entre los elementos de bioreconocimiento (10) y los analitos (12) se produce en la parte externa de la estructura fotónica (9).

7.- Dispositivo de sensado fotónico según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, caracterizado porque la interacción entre los elementos de bioreconocimiento (10) y los analitos (12) se produce en el interior de la estructura fotónica (9).

8. Dispositivo de sensado fotónico según la reivindicación 7, caracterizado porque la

parte interna de la estructura fotónica (9) está formada por un material poroso.

9.- Dispositivo de sensado fotónico según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque las partículas (11) fijadas a los elementos de bioreconocimiento (10) son partículas dieléctricas con un tamaño del orden de nanómetros, una conductividad eléctrica menor que $0.1 \text{ S} \cdot \text{m}^{-1}$ y un índice de refracción superior a 1.3.

10.- Dispositivo de sensado fotónico según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, caracterizado porque las partículas (11) fijadas a los elementos de bioreconocimiento (10) son partículas metálicas con un tamaño del orden de nanómetros y formadas por un elemento metálico puro, una aleación de elementos metálicos puros y/o un compuesto metálico.

11.- Dispositivo de sensado fotónico según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, caracterizado porque las partículas (11) fijadas a los elementos de bioreconocimiento (10) son moléculas biológicas con un tamaño del orden de nanómetros y una masa molecular superior a 10 KiloDalton.

12.- Dispositivo de sensado fotónico según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la estructura fotónica (9) es un resonador, un anillo resonante, una estructura de banda prohibida fotónica con distribuciones periódicas unidimensionales, una estructura de banda prohibida fotónica con distribuciones periódicas bidimensionales, una estructura de banda prohibida fotónica con cavidad resonante, una estructura fotónica con guías de ranura, una estructura interferométrica de Mach-Zehnder y/o un acoplador direccional.

13.- Dispositivo de sensado fotónico según cualquiera de las reivindicaciones 1-12, caracterizado porque el cambio conformacional de los elementos de bioreconocimiento (10) provoca la ruptura de dichos elementos de bioreconocimiento (10), de modo que las partículas (11) se liberan del elemento de transducción.

14.- Método de sensado fotónico, caracterizado porque comprende el uso de un dispositivo de sensado fotónico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13.

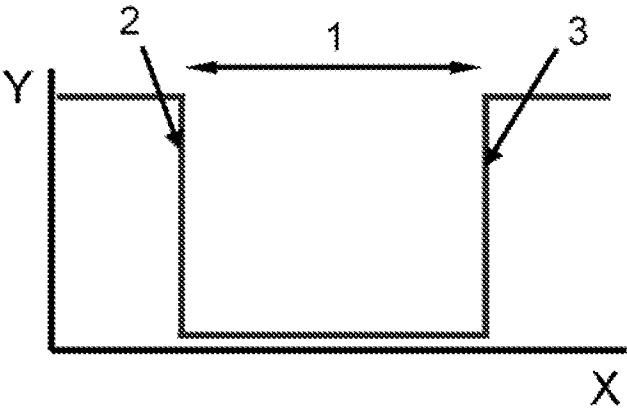


Figura 1a

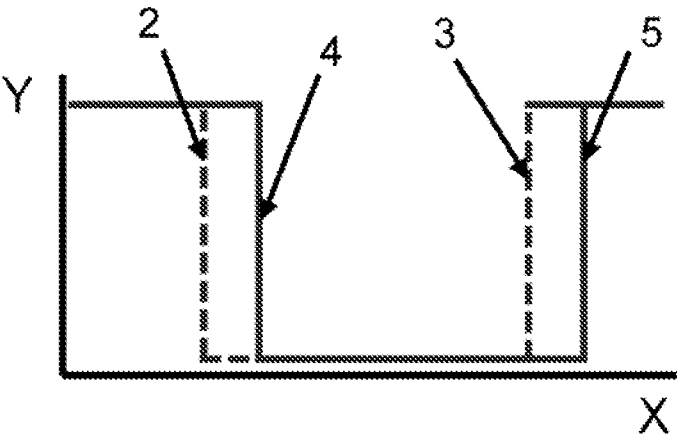


Figura 1b

2/5

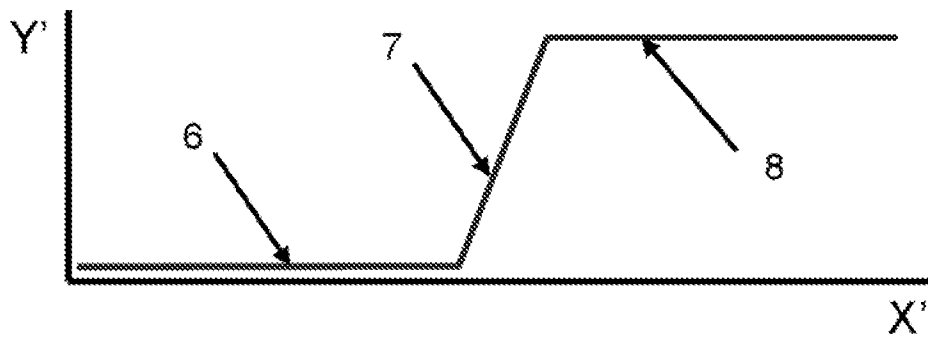


Figura 1c

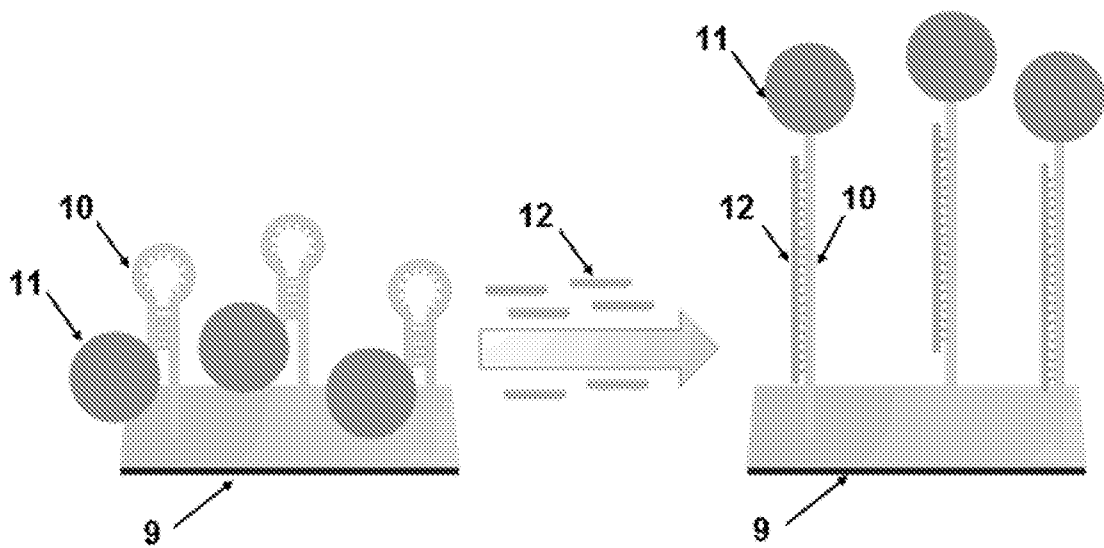


Figura 2

3/5

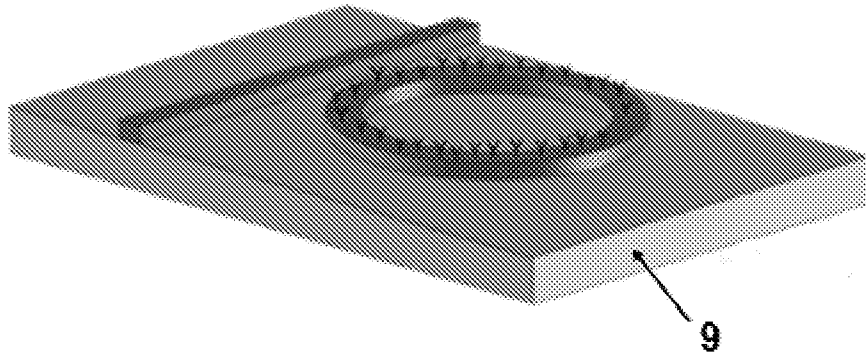


Figura 3a

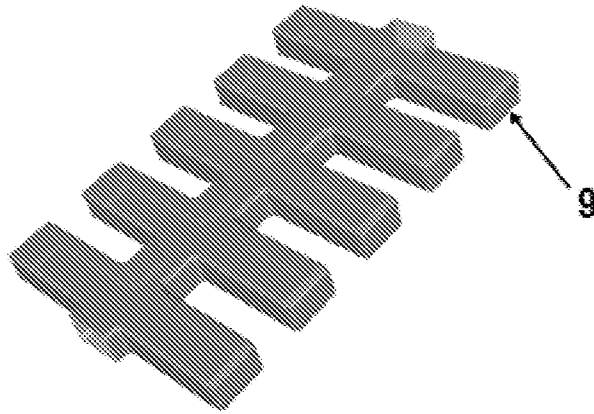


Figura 3b

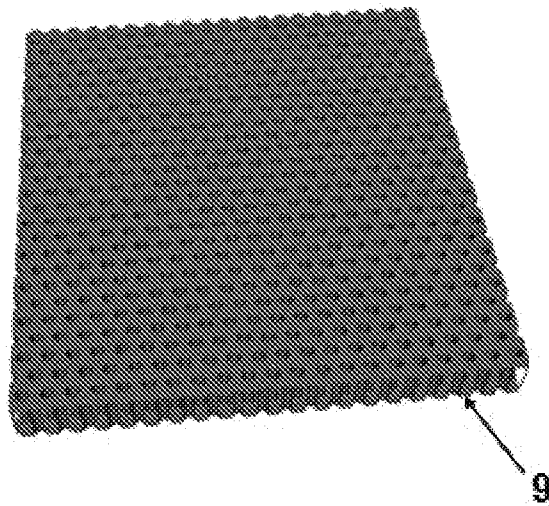


Figura 3c

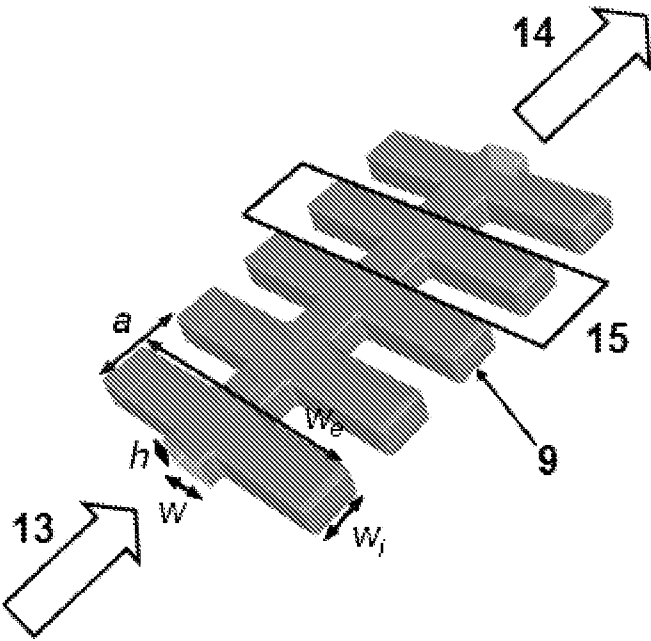


Figura 4

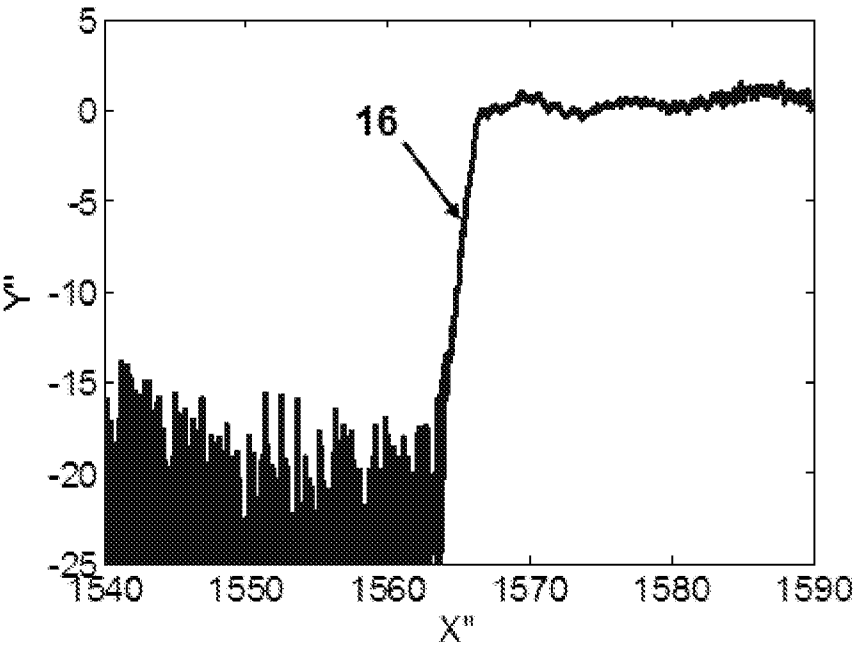


Figura 5

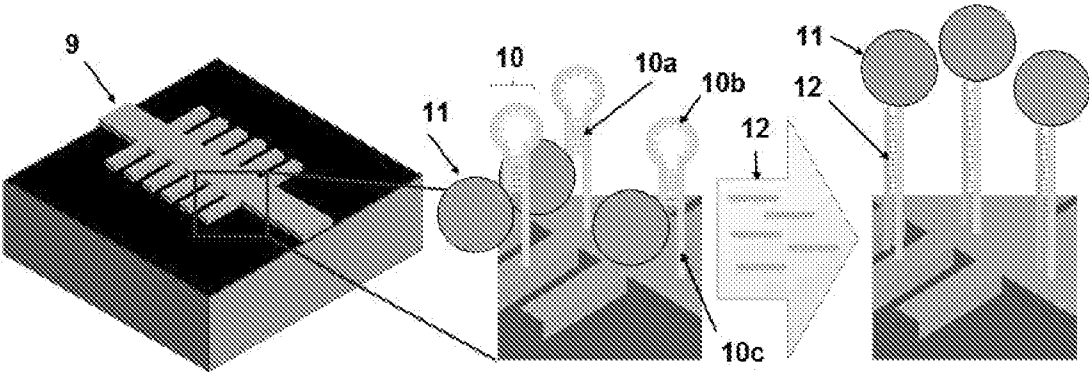


Figura 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2017/070731

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N, B82Y, C12Q, G02B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, INVENES, WPI, NPL, XPESP, HCAPLUS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WANG, C., et al.. HIGHLY SENSITIVE USER FRIENDLY THROMBIN DETECTION USING EMISSION LIGHT. Sensors and Actuators B: Chemical, 25/09/2015, Vol. 223, Pages 372-378, <DOI: DOI: 10.1016/j.snb.2015.09.101> Paragraph: "Materials and methods" and figs. 1 and 2.	1-14
A	KYUNG, W., et al. LABEL-FREE BIOSENSOR BASED ON AN ELECTRICAL TRACING-ASSISTED SILICON MICRORING RESONATOR WITH A LOW-COST BROADBAND SOURCE. Biosensors and Bioelectronics, 26/02/2013, Vol. 46, Pages 15-21 Paragraph: "Experimental" and fig. 1.	1-14

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.	
"E" earlier document but published on or after the international filing date	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
03/01/2018

Date of mailing of the international search report
(15/01/2018)

Name and mailing address of the ISA/

Authorized officer
M. García Poza

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Facsimile No.: 91 349 53 04

Telephone No. 91 3495568

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2017/070731

C (continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PARK, J.-H., et al., . HIGH-SENSITIVITY DETECTION OF ATP USING A LOCALIZED SURFACE PLASMON RESONANCE (LSPR) SENSOR AND SPLIT APTAMERS. Biosensors and Bioelectronics, 15/11/2015, Vol. 73, N° 26-31, <DOI: DOI: doi:10.1016/j.bios.2015.05.043> Paragraph: "Experimental methods" and scheme 1.	1-14
A	YUAN, Q., et al. APTAMER-CONJUGATED OPTICAL NANOMATERIALS FOR BIOANALYSIS. Trends in Analytical Chemistry, 2012, Vol. 39, N° 72-86 Figures.	1-14
A	SONG, S., et al., . APTAMER-BASED BIOSENSORS. Trends in Analytical Chemistry, 23/12/2007, Vol. 27, N° 108-117 Figures.	1-14
A	US 2014113359 A1 (DUTTA ACHYUT KUMAR ET AL.) 24/04/2014, Paragraphs [0011 - 0041].	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

Information on patent family members

PCT/ES2017/070731

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US2014113359 A1	24.04.2014	US2014120603 A1	01.05.2014
		US2017242008 A9	24.08.2017
		US9680046 B2	13.06.2017
		US2011169648 A1	14.07.2011
		US8641975 B2	04.02.2014
		US2008095663 A1	24.04.2008
		US7922976 B2	12.04.2011
-----	-----	-----	-----

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2017/070731

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N21/25 (2006.01)

B82Y20/00 (2011.01)

C12Q1/68 (2018.01)

G02B6/00 (2006.01)

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº
PCT/ES2017/070731

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

Ver Hoja Adicional

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G01N, B82Y, C12Q, G02B

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

EPODOC, INVENES, WPI, NPL, XPESP, HCAPLUS

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	WANG, C., et al.. HIGHLY SENSITIVE USER FRIENDLY THROMBIN DETECTION USING EMISSION LIGHT. Sensors and Actuators B: Chemical, 25/09/2015, Vol. 223, Páginas 372-378, <DOI: DOI: 10.1016/j.snb.2015.09.101> Apartado: "Materials and methods" y figs. 1 y 2.	1-14
A	KYUNG, W., et al. LABEL-FREE BIOSENSOR BASED ON AN ELECTRICAL TRACING-ASSISTED SILICON MICRORING RESONATOR WITH A LOW-COST BROADBAND SOURCE. Biosensors and Bioelectronics, 26/02/2013, Vol. 46, Páginas 15-21 Apartado: "Experimental" y fig. 1.	1-14

☒ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos ☒ Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.	
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.
03/01/2018

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.
15 de enero de 2018 (15/01/2018)

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional
OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Nº de fax: 91 349 53 04

Funcionario autorizado
M. García Poza
Nº de teléfono 91 3495568

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ES2017/070731

C (Continuación).		DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES
Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	PARK, J.-H., et al., . HIGH-SENSITIVITY DETECTION OF ATP USING A LOCALIZED SURFACE PLASMON RESONANCE (LSPR) SENSOR AND SPLIT APTAMERS. Biosensors and Bioelectronics, 15/11/2015, Vol. 73, Nº 26-31, <DOI: DOI: doi:10.1016/j.bios.2015.05.043> Apartado: “Experimental methods” y esquema 1.	1-14
A	YUAN, Q., et al. APTAMER-CONJUGATED OPTICAL NANOMATERIALS FOR BIOANALYSIS. Trends in Analytical Chemistry, 2012, Vol. 39, Nº 72-86 Figuras.	1-14
A	SONG, S., et al., . APTAMER-BASED BIOSENSORS. Trends in Analytical Chemistry, 23/12/2007, Vol. 27, Nº 108-117 Figuras.	1-14
A	US 2014113359 A1 (DUTTA ACHYUT KUMAR ET AL.) 24/04/2014, Párrafos [0011 - 0041].	1-14

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

Solicitud internacional nº

PCT/ES2017/070731

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
US2014113359 A1	24.04.2014	US2014120603 A1	01.05.2014
		US2017242008 A9	24.08.2017
		US9680046 B2	13.06.2017
		US2011169648 A1	14.07.2011
		US8641975 B2	04.02.2014
		US2008095663 A1	24.04.2008
		US7922976 B2	12.04.2011
-----	-----	-----	-----

CLASIFICACIONES DE INVENCION

G01N21/25 (2006.01)

B82Y20/00 (2011.01)

C12Q1/68 (2018.01)

G02B6/00 (2006.01)