

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 813 900**

51 Int. Cl.:

G01N 21/64 (2006.01)

G01N 21/77 (2006.01)

G02B 6/42 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.10.2003 PCT/FR2003/003214**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.05.2004 WO04042376**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.10.2003 E 03780242 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2020 EP 1556681**

54 Título: **Dispositivo de soporte de elementos cromóforos**

30 Prioridad:

30.10.2002 FR 0213627

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

25.03.2021

73 Titular/es:

**GENEWAVE (100.0%)
Immeuble Le Dorian Bât 2B, 172 Rue de
Charonne
75011 Paris, FR**

72 Inventor/es:

WEISBUCH, CLAUDE

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 813 900 T3

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

DESCRIPCIÓN

Dispositivo de soporte de elementos cromóforos

5 La invención se refiere a un dispositivo de soporte de elementos cromóforos tal como, en particular, los denominados comúnmente "biochips".

10 En estos dispositivos, un sustrato generalmente multicapa lleva elementos cromóforos que son moléculas químicas o biológicas, elementos colorantes añadidos o injertados a moléculas químicas o biológicas, o nanoestructuras semiconductoras tales como hilos o puntos cuánticos, y que emiten una fluorescencia cuya longitud de onda depende de su naturaleza, cuando son excitados por una luz apropiada. Esta fluorescencia permite, en particular, identificar y detectar sobre el sustrato moléculas que han reaccionado a tratamientos dados.

15 Ya se han propuesto, en las solicitudes WO-A-02516912, FR0115140 y FR0210285 de los mismos inventores, medios que permiten reforzar la intensidad de excitación de elementos cromóforos y la de la fluorescencia emitida por estos elementos. Se ha previsto específicamente el uso de un modo guiado de la luz de excitación para excitar los elementos cromóforos por la parte evanescente de la onda guiada, lo que es interesante en cuanto a la relación señal/ruido y el rechazo de la luz de excitación. En la técnica conocida, se ha propuesto acoplar la luz de excitación a una capa de guía del sustrato mediante iluminación de una red formada sobre la superficie de esta capa de guía, o
20 mediante iluminación de una franja de la capa de guía por la luz de excitación.

25 En el primer caso, el acoplamiento solo se efectúa si la luz de excitación llega a la red con un ángulo de incidencia determinado de forma muy precisa, variando este ángulo en función de la longitud de onda que se va a acoplar. El montaje se debe realizar, por tanto, con una gran precisión mecánica y óptica. En el segundo caso, el haz de iluminación de la franja de la capa de guía debe tener una dimensión correspondiente a la anchura o la altura eficaz del modo guiado, que es de un micrómetro o inferior y que, por tanto, se debe posicionar con una tolerancia inferior al micrómetro.

30 Así pues, las dificultades prácticas asociadas al acoplamiento de la luz de excitación en una capa de guía del sustrato son importantes.

La invención, en particular, tiene como objeto aportar una solución sencilla y eficaz a este problema.

35 Para este fin, propone un dispositivo de tipo biochip que comprende un sustrato cuya capa superficial forma una guía de onda plana, llevando dicha capa superficial elementos cromóforos en una zona de soporte de los elementos cromóforos, siendo estos elementos cromóforos adecuados para emitir una fluorescencia en respuesta a una excitación luminosa, conteniendo la guía de onda plana constituyentes fotoluminiscentes adecuados para emitir una luminiscencia a una o varias longitudes de onda de excitación de los elementos cromóforos cuando estos son excitados a su vez por una luz de excitación primaria, estando guiada esta luminiscencia emitida por estos
40 constituyentes en la guía de onda plana para la excitación de los elementos cromóforos en el plano de la guía de onda plana.

45 En el dispositivo de acuerdo con la invención, la luz de excitación de los elementos cromóforos se genera en la propia guía de onda plana, lo que evita todos los problemas de acoplamiento de esta luz en la guía de onda. Además, esta luz de excitación es producida ella misma por iluminación directa (no guiada) de la parte de la guía de onda cuyos constituyentes fotoluminiscentes se quiere excitar, lo que se puede efectuar de manera convencional con una tolerancia bastante grande que es, normalmente, superior a 10 μm .

50 Los constituyentes fotoluminiscentes del dispositivo de acuerdo con la invención pueden ser de naturaleza muy diversa y comprenden, en particular, polímeros, moléculas orgánicas, iones luminiscentes o puntos cuánticos, o son formados en una estructura heterogénea semiconductor multicapa.

55 En este caso, son posibles diferentes configuraciones: en particular se puede tener una zona que contiene constituyentes fotoluminiscentes entre dos zonas de soporte de los elementos cromóforos, o bien dos zonas que contienen constituyentes fotoluminiscentes que rodean una zona de soporte de los elementos cromóforos o, incluso, una zona que contiene constituyentes fotoluminiscentes y que se extiende sobre el perímetro de la capa de guía, con una o varias zonas en su interior que contienen constituyentes fotoluminiscentes.

60 Se pueden combinar estas configuraciones diversas con una iluminación selectiva de las zonas que contienen los constituyentes fotoluminiscentes por la luz de excitación primaria.

65 En una variante, los constituyentes fotoluminiscentes se pueden distribuir de una forma esencialmente uniforme sobre toda la superficie de la capa de guía y son iluminadas, por tanto, de forma selectiva determinadas zonas de esta superficie por la luz de excitación primaria.

De acuerdo con otra característica de la invención, se proporcionan medios de filtrado de la longitud de onda en la

guía de onda plana a fin de eliminar, de la luz emitida por los constituyentes fotoluminiscentes, las longitudes de onda que son idénticas o próximas a las de la fluorescencia emitida por los elementos cromóforos.

5 De este modo se mejora la relación señal/ruido de la fluorescencia emitida por los elementos cromóforos y captada por medios ópticos adecuados.

Estos medios de filtrado se sitúan preferentemente entre zonas de guía de onda plana que contienen constituyentes fotoluminiscentes y zonas de soporte de los elementos cromóforos.

10 Estos medios de filtrado pueden comprender series de ranuras formadas en la guía de onda plana, cristales fotónicos que funcionan en el plano de la guía de onda o cavidades ópticas formadas en el plano de la guía de onda por confinamiento entre surcos o cristales fotónicos.

15 En una variante, los medios de filtrado pueden estar formados por materiales incluidos en la guía de onda plana y que absorben las longitudes de onda que son idénticas o próximas a las de la fluorescencia emitida por los elementos cromóforos.

20 Estos constituyentes absorbentes pueden ser colorantes del tipo de los utilizados en los filtros coloreados, que tienen un rendimiento de luminiscencia particularmente bajo en las bandas espectrales consideradas y que convierten en calor la luz parásita guiada.

25 De acuerdo con otra variante, que es ventajosa por el hecho de que la longitud de onda de excitación de los elementos cromóforos es inferior a la longitud de onda de la fluorescencia emitida por estos elementos, el filtrado es efectuado por la propia guía de onda plana, teniendo esta una longitud de onda de corte del modo guiado que está comprendida entre la longitud de onda de excitación de los elementos cromóforos y la de la fluorescencia emitida por estos elementos.

30 El dispositivo de acuerdo con la invención comprende también medios que permiten aumentar la cantidad de luminiscencia guiada que llega a las zonas de soporte de los elementos cromóforos. En particular, se puede reflejar hacia esas zonas la luminiscencia guiada o hacer que esta pase varias veces por estas zonas. Para ello, es posible recubrir la franja de la capa de guía con un metal tal como, por ejemplo, aluminio, plata, oro, etc., o incorporar reflectores en la guía de onda plana, pudiendo estar constituidos estos reflectores bien por una ranura, bien por una serie periódica de varias ranuras que forman un reflector de tipo DBR (*Distributed Bragg Reflector*) una banda de reflectancia del cual está a la longitud de onda de excitación de los elementos cromóforos para los ángulos de
35 incidencia del modo guiado considerado, o bien por un cristal fotónico bidimensional.

La producción de la luminiscencia guiada a partir de la luz de excitación primaria se puede aumentar también por los medios siguientes:

- 40
- una capa o una zona reflectante situada bajo la capa o la zona que contiene constituyentes fotoluminiscentes,
 - la disposición de los constituyentes fotoluminiscentes en un antinodo de un modo de cavidad vertical para someter a estos constituyentes a una intensidad de excitación máxima, seleccionando los dos espejos que delimitan la cavidad a fin de optimizar la conversión,
 - una estructuración fotónica, tal como cavidades formadas alrededor de zonas que contienen los constituyentes
45 fotoluminiscentes de modo que la emisión guiada tenga lugar en modos de cavidades.

Igualmente, se puede acoplar de forma óptima la emisión luminiscente de los constituyentes previamente citados al modo guiado, utilizando los medios siguientes:

- 50
- las zonas que contienen los constituyentes fotoluminiscentes se sitúan a un nivel de antirresonancia en emisión vertical (perpendicular a la guía de onda plana), lo que permite reducir la emisión en dirección vertical en favor de la emisión guiada,
 - las zonas que contienen los constituyentes fotoluminiscentes se sitúan bajo una capa reflectante, por ejemplo metálica, a una distancia correspondiente a la inhibición de la excitación de los modos verticales en un amplio
55 intervalo de ángulos. En ese caso, la luz de excitación primaria ilumina la cara del sustrato opuesta a la que contiene la capa reflectante citada anteriormente.

60 El dispositivo de acuerdo con la invención, por supuesto, puede comprender diversos tipos de constituyentes fotoluminiscentes que emiten a longitudes de onda diferentes cuando son excitados, a fin de asegurar la excitación a diferentes longitudes de onda de diversos tipos de elementos cromóforos. En ese caso, se puede usar una sola luz de excitación primaria o varias luces de excitación primaria que tienen bandas espectrales diferentes para excitar los constituyentes fotoluminiscentes.

65 Los diferentes constituyentes fotoluminiscentes se pueden reagrupar por naturaleza y pueden formar regiones perceptibles diferentes, asociadas a reflectores y medios de filtrado del tipo mencionado anteriormente.

Estas regiones se pueden superponer igualmente en el plano de la capa de guía, estando dispuestas a alturas diferentes en esta capa.

5 Los constituyentes fotoluminiscentes de naturalezas diferentes también se pueden mezclar y distribuir por toda la capa de guía en proporciones seleccionadas en función de la potencia luminosa deseada para cada especie.

10 Para evitar que la luz de excitación primaria y la luminiscencia no guiada que pueden haberse difundido por el sustrato lleguen a constituir una señal de fondo perjudicial, se puede disponer, sobre una parte o sobre la totalidad del sustrato, una capa absorbente situada bajo la guía de onda plana que consume los fotones emitidos desde esta guía de onda.

15 Se pueden utilizar también en el dispositivo de acuerdo con la invención los medios descritos en la solicitud FR0210285, mencionada anteriormente, de los mismos inventores y, en particular, los relativos a las estructuraciones de zonas de soporte de los elementos cromóforos que permiten distinguir una señal útil de un ruido de fondo global.

20 De manera general y tal como se describe en la solicitud WO-A-0216912, mencionada anteriormente, de los mismos inventores, la fluorescencia emitida por los elementos cromóforos puede ser captada bien desde la parte superior del dispositivo de acuerdo con la invención con un objetivo de apertura numérica dada, o bien desde la parte inferior de este dispositivo utilizando una matriz de fotodetectores de tipo CCD o CMOS que forma parte del sustrato.

25 La invención se aplica también al formato de microplacas (formato "SBS"), por ejemplo de 24, 96, 384 o 1536 pocillos, en las que el emplazamiento de los elementos fotoluminiscentes y de los medios de filtrado se adapta a la geometría de la microplaca y de los pocillos.

30 Se aplica también al formato de portaobjetos de microscopio que contienen micropocillos, realizados mediante depósito de una capa de varias decenas de μm de espesor con orificios que forman los micropocillos (por ejemplo, tratamiento de tipo TEFLON® de la marca Cel-Line comercializado por Erie Scientific Corp, Portsmouth, NH). Los diferentes pocillos se pueden utilizar como zonas de hibridación separadas destinadas a muestras de ensayo diferentes.

El dispositivo mencionado previamente se puede utilizar también en un medio líquido que contiene elementos cromóforos en suspensión y partículas difusoras.

35 En este medio líquido, solo los elementos cromóforos inmovilizados sobre la superficie del dispositivo son excitados por la parte evanescente de la onda guiada y no los elementos cromóforos en suspensión, lo que mejora considerablemente la relación señal/ruido y permite medir la señal de hibridación resuelta en el tiempo.

40 La invención se comprenderá mejor y otras características, detalles y ventajas de la misma serán más evidentes con la lectura de la descripción que sigue, dada a modo de ejemplo, con referencia a los dibujos adjuntos en los que:

- las figuras 1 y 2 son vistas esquemáticas, transversal y superior, respectivamente, de un primer modo de realización de un dispositivo de acuerdo con la invención;
- las figuras 3 a 6 son vistas esquemáticas transversales que ilustran variantes de realización de este dispositivo;
- 45 - la figura 7 ilustra una variante que no forma parte de la invención;
- las figuras 8 y 9 son vistas esquemáticas superiores que representan otras variantes de realización del dispositivo de acuerdo con la invención;
- la figura 10 es una vista esquemática transversal del dispositivo de la figura 9;
- 50 - las figuras 11 y 12 son vistas esquemáticas transversales que representan dos etapas de fabricación de un dispositivo de acuerdo con la invención;
- la figura 13 es una vista esquemática transversal que representa otra variante de realización del dispositivo de acuerdo con la invención.

55 El dispositivo representado en las figuras 1 y 2 comprende un sustrato 10 de tipo convencional cuya capa superior 12, destinada a llevar elementos cromóforos 14 sobre una parte 16 de su superficie, se realiza en un material que tiene un índice de refracción elevado, por ejemplo superior a aproximadamente 1,6, y forma una guía de onda plana.

60 Una parte 18 de esta capa 12, adyacente a la 16, destinada a llevar los elementos cromóforos 14, contiene constituyentes fotoluminiscentes 20 que emiten una luminiscencia en modo guiado en la capa 12 cuando son excitados por una luz de excitación primaria 22 que ilumina directamente bien la parte 18 de la capa 12, que contiene los constituyentes fotoluminiscentes 20, o bien la cara opuesta 24 del sustrato 10, tal como se representa esquemáticamente en la figura 1.

65 Los componentes fotoluminiscentes 20 se seleccionan para que emitan, cuando son excitados por la luz 22, una luminiscencia a longitudes de onda de excitación de los elementos cromóforos 14. Estos últimos son excitados por tanto, por la parte evanescente de la luminiscencia guiada 26 que se propaga en la capa 12.

Los constituyentes fotoluminiscentes 20 que contiene la capa 12 comprenden, por ejemplo:

- polímeros luminiscentes, particularmente los desarrollados para los OLED (diodos electroluminiscentes orgánicos),
- 5 - moléculas orgánicas que soportan la inclusión de sílice u óxido en una matriz polimérica preparada por vía sol-gel, pudiendo ser la inclusión física o química (enlace covalente) o electrostática,
- iones luminiscentes, particularmente basados en metales de transición o de las tierras raras,
- puntos cuánticos, particularmente basados en semiconductores II-VI o III-V, que pueden estar funcionalizados químicamente en su superficie para una incorporación mejor,
- 10 - una heteroestructura semiconductor que comprende capas (pocillos, hilo o punto cuántico).

Estos constituyentes fotoluminiscentes son iluminados por la luz de excitación primaria 22 con una tolerancia mecánica y óptica relativamente elevada, superior a 10 μm . Cuando las longitudes de onda de excitación de los elementos cromóforos 14 son del orden de 500 a 650 nm, por ejemplo, las longitudes de onda de la luz de excitación primaria 22 pueden estar comprendidas entre aproximadamente 350 nm y 500 nm.

La luminiscencia guiada 26 emitida por los constituyentes fotoluminiscentes 20 tiene una banda espectral relativamente ancha ya que es producida por emisión espontánea de los constituyentes 20 y puede incluir una intensidad de luminiscencia no nula a longitudes de onda de la fluorescencia emitida por los elementos cromóforos 14. Por tanto, es necesario filtrarla espectralmente para eliminar longitudes de onda idénticas o próximas a las de la fluorescencia emitida, que podrían constituir (tras su difusión fuera de la guía debida particularmente a las irregularidades de esta última) un ruido de fondo perjudicial en la captación de la fluorescencia emitida por los elementos 14.

Para esto se puede interponer en la capa 12, entre la región 18 que comprende los constituyentes fotoluminiscentes 20 y la región 16 que lleva los elementos cromóforos 14, un filtro espectral 28 que actúa sobre la luminiscencia guiada 26. Este filtro puede estar formado por una serie de ranuras de la capa 12 o, incluso, por cristales fotónicos que funcionan en el plano o también por cavidades ópticas formadas en el plano de la capa 12 por confinamiento entre surcos o cristales fotónicos.

En una variante, se puede diseñar la capa de guía 12 de modo que su longitud de onda de corte del modo guiado útil (por ejemplo de polarización TE) esté comprendida entre la longitud de onda de excitación de los elementos cromóforos 14 y la longitud de onda de la fluorescencia emitida por estos elementos. Una guía asimétrica en cuanto al perfil del índice de refracción es adecuada para tal funcionamiento. De esta manera, las longitudes de onda comprendidas entre la longitud de onda de corte de la capa de guía 12 y la longitud de onda de la fluorescencia emitida no son guiadas por la capa 12 y la luz producida a esas longitudes de onda se aleja del plano de la guía en dimensiones laterales pequeñas y el campo electromagnético asociado llega a ser despreciable en la zona útil en la que se encuentran los elementos cromóforos 14.

En una variante, se puede efectuar este filtrado mediante inclusión en la capa 12 de componentes absorbentes a las longitudes de onda superiores a las longitudes de onda de excitación de los elementos cromóforos 14 y, en particular, a las longitudes de onda próximas a las de la fluorescencia emitida por los elementos 14. El coeficiente de absorción modal del modo guiado puede tener un valor relativamente elevado (de 10 a 1000 cm^{-1}) sin que se vea afectada la emisión de los elementos cromóforos 14. Estos componentes absorbentes pueden ser colorantes tales como los utilizados en los filtros coloreados y que tienen un rendimiento de luminiscencia particularmente bajo en las bandas espectrales consideradas, de modo que la luz parásita guiada se convierte en calor.

La figura 3 representa esquemáticamente una realización en la que el filtro espectral 28 está constituido por una serie de ranuras poco pronunciadas (de poca profundidad), de tipo sinusoidal, por ejemplo, y/o con un contraste de índice de refracción bajo, formadas en la superficie o en una o varias subcapas intermedias que tienen índices de refracción diferentes de la guía de onda plana 12. La red formada por estas ranuras se representa "enterrada" en la guía de onda 12 de la figura 3.

Cuando los constituyentes fotoluminiscentes 20 son iluminados por la luz de excitación primaria 22 a través del sustrato 10, desde su cara 24 opuesta a la destinada a llevar los elementos cromóforos 14, es ventajoso que las zonas 18, que contienen los constituyentes fotoluminiscentes, se dispongan bajo una capa reflectante 25, por ejemplo metálica, a un nivel que corresponde al nodo de resonancia vertical para la luminiscencia emitida, tal como se representa esquemáticamente en la figura 4.

Para aumentar la cantidad de luminiscencia guiada 26 que llega a la zona útil 16, que lleva los elementos cromóforos 14, se puede incorporar en la zona 18 de la capa 12 un reflector 30 (figuras 1 y 2) que, en este ejemplo, está constituido por una simple ranura practicada en la capa 12 y que forma una U en el plano de esta capa, estando abierta la U en dirección de la zona 16 a fin de reenviar hacia ella una cantidad máxima de luminiscencia guiada 26. Las anchuras de ranura están comprendidas normalmente entre $\lambda/10$ y $\lambda/3$.

En una variante, este reflector puede estar formado por una serie periódica de dos o tres ranuras o más, que forman

un reflector de tipo DBR una de cuyas bandas de reflectancia es a la longitud de onda de excitación de los elementos cromóforos 14 para los ángulos de incidencia del modo guiado considerado.

5 En otra variante, el reflector puede estar formado por un cristal fotónico bidimensional cuyas bandas prohibidas se usan en las polarizaciones y direcciones consideradas (véase el artículo de BENISTY *et al.*), "Optical and confinement properties of two dimensional photonic crystals", *J. Lightwave Technology*, vol. 17, págs. 2063-2077, 1999).

10 En todos los casos, este reflector está formado a lo largo de todo el espesor de la capa de guía 12 para aumentar la reflectancia con respecto al modo guiado. Una ventaja de este reflector es que define una forma curvada adecuada para la superficie reflectante, lo que permite obtener una distribución deseada de la luminiscencia guiada (pudiendo ser esta distribución uniforme o no) manteniendo al mismo tiempo un soporte con forma de paralelepípedo. Una ventaja de la utilización de un cristal fotónico bidimensional es también que el efecto de difracción a determinadas incidencias y longitudes de onda permite reforzar el carácter aleatorio de la distribución de la luminiscencia guiada.
15 Sin embargo, si se dispone de una fuente de luminiscencia guiada de gran potencia por unidad de superficie que tiene una pequeña dimensión lateral del orden del milímetro, con un reflector parabólico 30 formado en la capa de guía 12 se puede obtener un haz guiado esencialmente colimado de gran anchura (aproximadamente 5-50 mm), lo que puede ser ventajoso para niveles de tratamiento posterior de la luminiscencia guiada, en particular mediante filtros. Las características de estos filtros dependen de la incidencia del modo guiado, lo que lleva a fugas o reflexiones indeseables cuando la luz que se ha de filtrar se propaga en un amplio intervalo de ángulos de
20 incidencia.

También es posible, tal como se representa en la figura 1, proporcionar en el sustrato 10, bajo una parte al menos de la capa 12, una capa absorbente 32 que va a consumir todos los fotones emitidos desde la capa 12 por difusión de la luz de excitación primaria 22 y/o de la luminiscencia no guiada producida por los constituyentes
25 fotoluminiscentes 20 a las longitudes de onda de excitación de los elementos cromóforos 14, pudiendo constituir esta luz difundida una señal de fondo perjudicial.

30 En la variante de realización representada esquemáticamente en la figura 5, la capa de guía 12 del sustrato 10, que lleva los elementos cromóforos 14, contiene constituyentes fluorescentes 20 y componentes absorbentes (los del filtro 28 de las figuras 1 y 2) que se mezclan entre sí y se distribuyen de forma relativamente uniforme por toda la capa de guía 12.

35 En la variante de realización de la figura 6, los componentes absorbentes del filtro 28 se incluyen en la parte 16 de la capa de guía 12 que lleva los elementos cromóforos 14 y forman una capa esencialmente continua en esta región 16, mientras que los constituyentes 20 fotoluminiscentes se incluyen en la otra región 18 de la capa 12 y forman una capa esencialmente continua en esta región.

40 En la variante de realización de la figura 7, los constituyentes fotoluminiscentes 20 y los componentes absorbentes del filtro 28 forman en la capa 12 dos capas intermedias superpuestas, estando situada la capa que comprende los componentes fotoluminiscentes 20 directamente bajo los elementos cromóforos 14 y el conjunto de estas dos capas forman una guía de onda plana. La luminiscencia emitida por los constituyentes 20 está guiada en esta guía de onda y sus componentes, a las longitudes de onda de la fluorescencia emitida por los elementos 14, son absorbidos por la
45 capa 28.

En otra variante adicional de la realización representada en la figura 8, los constituyentes fotoluminiscentes 20 se pueden reagrupar en el plano de la capa de guía 12 en zonas 34 situadas a ambos lados de una zona central 16 que lleva los elementos cromóforos 14.

50 En una variante, se puede tener, por supuesto, la disposición inversa, es decir, una zona central que contiene los constituyentes fotoluminiscentes 20 y dos zonas laterales que llevan los elementos cromóforos 14 y que están situadas a ambos lados de esta zona central.

55 En la variante de realización de las figuras 9 y 10, se ha representado una disposición en la que las zonas 34 que contienen los constituyentes fotoluminiscentes 20 y las zonas 36 que llevan los elementos cromóforos 14 están rodeadas por un reflector 38 formado por un revestimiento metálico de la franja de la capa de guía 12, sobre todo su perímetro. Este revestimiento metálico es, por ejemplo, de aluminio, plata, oro, etc., e impide que la luz se escape por la franja de la capa 12.

60 De manera general, solamente las partes de la capa 12 que contienen zonas 34 de constituyentes fotoluminiscentes pueden ser iluminadas por la luz de excitación primaria 22. Cuando estos constituyentes fotoluminiscentes se distribuyen por la totalidad de la capa 12, como es el caso de los modos de realización de las figuras 5 y 7, solo determinadas partes de la capa 12 son iluminadas por la luz de excitación primaria 22, tal como se representa esquemáticamente en la figura 7.
65

En la forma de realización de las figuras 11 y 12, el sustrato 10 lleva una heteroestructura 40 semiconductor que

constituye una guía de onda y que comprende un filtro 28 incorporado y pozos luminiscentes que están incluidos en una parte de esta estructura 40. Estos pozos están formados ventajosamente sobre una parte solamente de la heteroestructura mediante un método de crecimiento perfeccionado tal como el conocido con la denominación SAG (*Selective Area Growth*), lo que permite evitar cualquier reabsorción más allá de esta parte.

5 En una variante, una película semiconductor se puede depositar sobre el sustrato 10 y cortar después mediante procedimientos de litografía convencional de modo que solo queden lugares que serán iluminados eficazmente por la luz de excitación primaria. La figura 11 ilustra esquemáticamente la primera etapa antes del corte.

10 A continuación, se forma una capa de guía 12 sobre el sustrato 10 (figura 12), por ejemplo mediante un procedimiento de despegue ("*lift-off*"), estando acoplada ópticamente esta capa de guía 12 con la estructura 40 o con la película semiconductor mencionada anteriormente.

15 En la variante de realización de la figura 13, la estructura representada corresponde esencialmente a la de las figuras 1 y 2, si bien el sustrato 10 comprende además, bajo la zona 16 que lleva los elementos cromóforos 14, una capa intermedia 42 estructurada, que es parcial o totalmente reflectante para la fluorescencia emitida por los elementos cromóforos 14 y que está dispuesta entre la capa absorbente y la capa de guía 12, y contiene zonas de espesor o de altura diferente, lo que permite variar, mediante interferencia destructiva o constructiva, la intensidad de la fluorescencia emitida por los elementos cromóforos 14. Esta capa intermedia 42 está recubierta con una capa
20 de espesor suficiente para que el modo guiado por la capa 12 tenga un campo evanescente despreciable al nivel de la capa estructurada 42, lo que permite no perturbar la propagación del modo guiado.

El dispositivo de acuerdo con la invención puede comprender constituyentes fotoluminiscentes 20 que emiten, cuando son excitados, a longitudes de onda diferentes para la excitación de elementos cromóforos 14 de tipos
25 diferentes. Estos constituyentes 20 diferentes pueden estar mezclados o separados en zonas 34 diferentes.

Se pueden efectuar numerosas modificaciones a las realizaciones descritas y representadas: por ejemplo, los constituyentes fotoluminiscentes 20 pueden formar una capa muy fina depositada sobre la superficie de una capa de guía preexistente, lo que permite captar en esta capa luminiscencia guiada por la parte evanescente del modo
30 guiado y localizar la capa de constituyentes 20 a fin de favorecer los efectos mencionados anteriormente de antirresonancia vertical para la luminiscencia guiada y de resonancia vertical para la luz de excitación primaria.

Cuando la fluorescencia emitida por los elementos cromóforos es captada por una matriz de fotodetectores CCD o CMOS, es ventajoso proporcionar medios de filtrado de la luz de excitación primaria y/o de la luminiscencia guiada y
35 que dejan pasar al menos la mayor parte de la fluorescencia emitida.

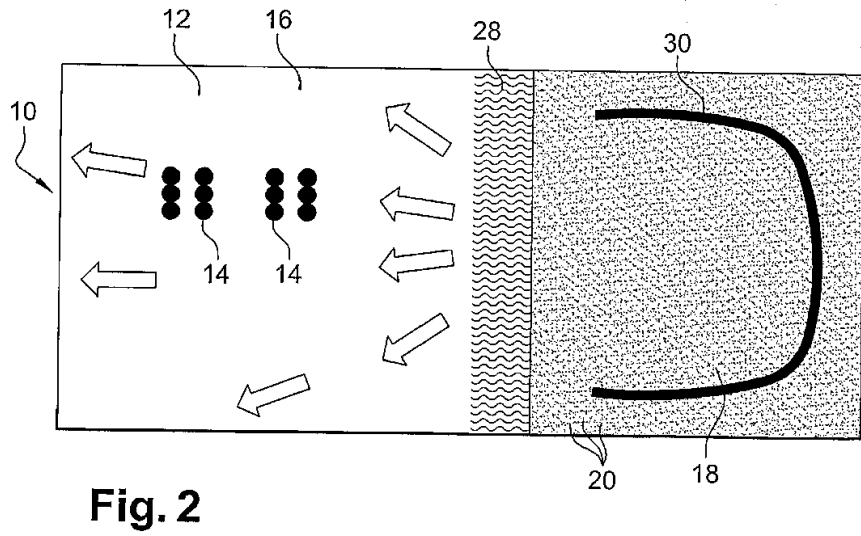
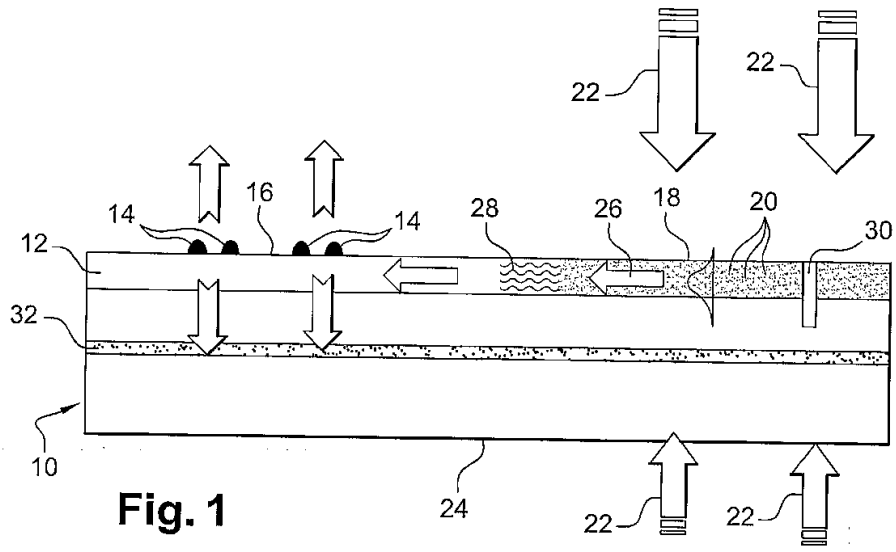
Estos medios de filtrado pueden estar formados por una o varias capas absorbentes y/o por un filtro interferencial multicapa (por ejemplo, un espejo de Bragg correctamente centrado).

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo de tipo biochip que comprende un sustrato (10) cuya capa superficial forma una guía de onda plana (12), llevando dicha capa superficial elementos cromóforos en una zona (16, 36) de soporte de los elementos cromóforos, siendo dichos elementos cromóforos adecuados para emitir una fluorescencia en respuesta a una excitación luminosa, conteniendo la guía de onda plana (12) constituyentes fotoluminiscentes (20) adecuados para emitir una luminiscencia a una o varias longitudes de onda de excitación de los elementos cromóforos (14) cuando estos constituyentes (20) son excitados a su vez por una luz de excitación primaria (22), estando la luminiscencia emitida por los constituyentes (20) generada y guiada en la guía de onda plana (12) por la excitación de los elementos cromóforos (14), **caracterizado por que** los constituyentes fotoluminiscentes (20) están dispuestos en la guía de onda plana (12) en zonas separadas (18, 34) y adyacentes a las zonas (16, 36) de soporte de los elementos cromóforos (14) en el plano de la guía de onda plana (12).
2. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** los constituyentes fotoluminiscentes comprenden polímeros, moléculas orgánicas, iones luminiscentes o puntos cuánticos, o son formados en una estructura heterogénea semiconductor (40) en capas.
3. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** se proporcionan medios de filtrado (28) de la longitud de onda en la guía de onda plana (12) para eliminar, de la luminiscencia (26) emitida por los constituyentes fotoluminiscentes (20), las longitudes de onda que son idénticas o próximas a las de la fluorescencia emitida por los elementos cromóforos (14).
4. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 3, **caracterizado por que** los medios de filtrado (28) se sitúan en las zonas (16) de soporte de los elementos cromóforos (14).
5. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 3, **caracterizado por que** los medios de filtrado (28) se sitúan entre zonas (18) que contienen componentes fotoluminiscentes (20) y zonas (16) de soporte de los elementos cromóforos (14).
6. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones a 5, **caracterizado por que** los medios de filtrado (28) están constituidos por series de ranuras, cristales fotónicos o cavidades ópticas formadas en la guía de onda plana (12).
7. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 6, **caracterizado por que** las ranuras son con un contraste de índice de refracción bajo o de forma sinusoidal poco profunda y están formadas en la superficie o en subcapas intermedias de la guía de onda plana (12).
8. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones a 5, **caracterizado por que** los medios de filtrado comprenden materiales incluidos en la guía de onda plana (12) y que absorben las longitudes de onda idénticas o próximas a las de la fluorescencia emitida por los elementos cromóforos (14).
9. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones 3 a 5, **caracterizado por que**, dado que la longitud de onda de excitación de los elementos cromóforos (14) es inferior a la longitud de onda de la fluorescencia emitida por estos elementos, el filtrado es efectuado por la propia guía de onda plana (12), teniendo esta una longitud de onda de corte del modo guiado comprendida entre la longitud de onda de excitación de los elementos cromóforos y la de la fluorescencia emitida por estos elementos.
10. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, **caracterizado por que** los constituyentes fotoluminiscentes se distribuyen de forma esencialmente uniforme en la guía de onda plana (12).
11. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** la guía de onda plana (12) contiene constituyentes fotoluminiscentes diferentes que emiten una luminiscencia a longitudes de onda diferentes para la excitación de elementos cromóforos de tipos diferentes.
12. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 11, **caracterizado por que** los constituyentes fotoluminiscentes diferentes se mezclan entre sí en la guía de onda plana (12).
13. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 11, **caracterizado por que** los constituyentes fotoluminiscentes de un tipo dado que emiten a una longitud de onda dada se separan de otros constituyentes fotoluminiscentes que emiten a longitudes de onda diferentes.
14. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 13, **caracterizado por que** los constituyentes fotoluminiscentes de tipos diferentes están en zonas diferentes de la guía de onda plana (12) o en capas diferentes superpuestas de esta guía de onda.
15. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** el sustrato (10)

comprende, bajo una parte al menos de la guía de onda plana (12), una capa (32) de materia que absorbe los fotones emitidos desde la guía de onda (12) a las longitudes de onda de la luz de excitación primaria (22) y/o de la luz de excitación de los elementos cromóforos (14).

- 5 16. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** el sustrato (10) comprende, bajo una zona (16) de soporte de los elementos cromóforos (14), una capa intermedia estructurada (42) que refleja al menos parcialmente la fluorescencia emitida por los elementos cromóforos y que contiene zonas de espesor o de altura diferentes, lo que permite variar la intensidad de esta fluorescencia mediante interferencia destructiva o constructiva.
- 10 17. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** la guía de onda plana comprende, en al menos una zona (18, 34), o en las proximidades de la misma, que contiene constituyentes fotoluminiscentes (20), medios (30, 38) que forman un reflector para el guiado de la luminiscencia emitida (26) hacia al menos una zona (16) de soporte de los elementos cromóforos (14).
- 15 18. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 17, **caracterizado porque** los medios que forman el reflector comprenden un revestimiento reflectante (38), por ejemplo metálico, formado sobre la franja de la guía de onda plana (12) o bien ranuras (30) formadas en la guía de onda plana (12) o cristales fotónicos bidimensionales formados en esta guía de onda plana.
- 20 19. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** el sustrato (10) comprende, bajo la guía de onda plana (12) que contiene los constituyentes fotoluminiscentes (20), una capa de materia que refleja las longitudes de onda de la luminiscencia emitida.
- 25 20. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** la guía de onda plana (12) comprende cavidades resonantes formadas por capas reflectantes situadas a ambos lados de los constituyentes fotoluminiscentes (20).
- 30 21. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 20, **caracterizado por que** los constituyentes fotoluminiscentes (20) se sitúan al nivel de un nodo de resonancia vertical para la luminiscencia emitida.
22. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 20 o 21, **caracterizado por que** los constituyentes fotoluminiscentes (20) se sitúan al nivel de un antinodo de resonancia vertical para la luz de excitación primaria.
- 35 23. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** los constituyentes fotoluminiscentes (20) se sitúan bajo una capa reflectante (25), por ejemplo metálica, a un nivel correspondiente a un nodo de resonancia vertical para la luminiscencia emitida y son iluminados por la luz de excitación primaria a través de la cara (24) del sustrato opuesta a la que contiene dicha capa reflectante.
- 40 24. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** los constituyentes fotoluminiscentes (20) se sitúan en una capa fina sobre una capa de guía del sustrato.
- 45 25. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 23, **caracterizado porque** los constituyentes fotoluminiscentes están formados en una estructura semiconductor multicapa fijada al sustrato (10) y a la que está acoplada ópticamente una capa de guía (12) depositada sobre el sustrato y de soporte de los elementos cromóforos (14).
- 50 26. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** su capa superficial (12) está recubierta con una capa que tiene un espesor de varias decenas de μm y que comprende orificios que forman micropocillos de recepción de muestras.



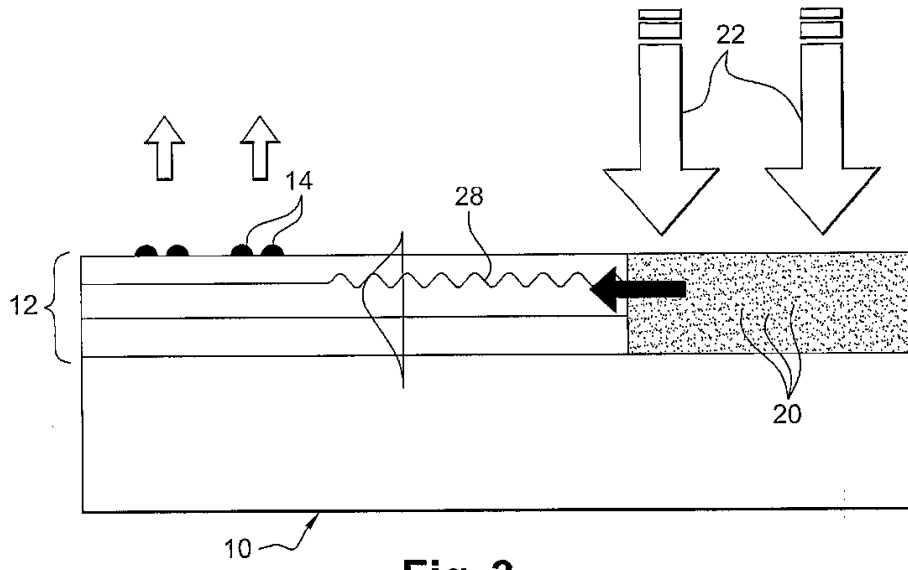


Fig. 3

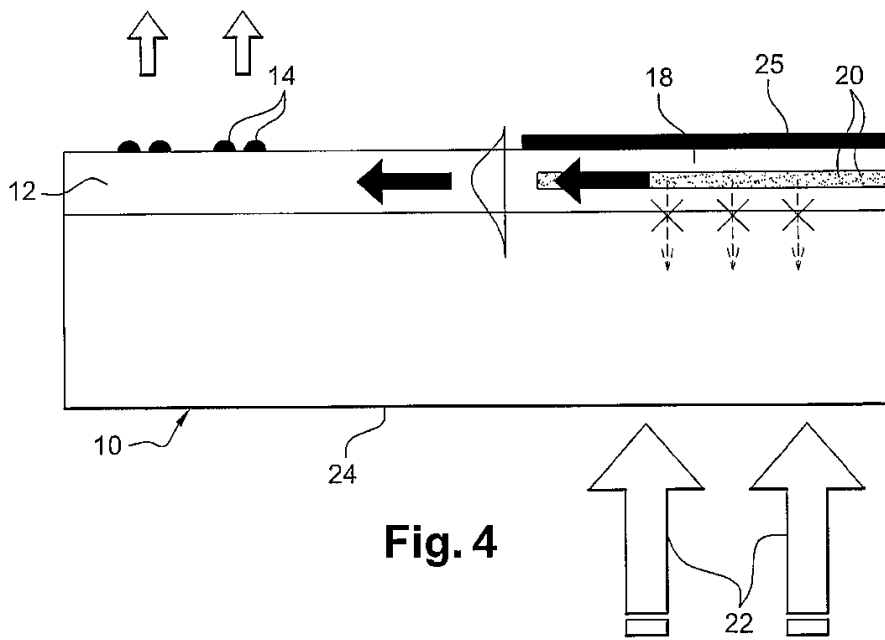


Fig. 4

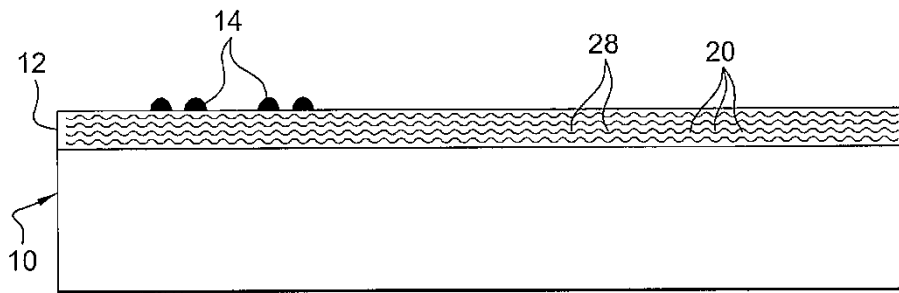


Fig. 5

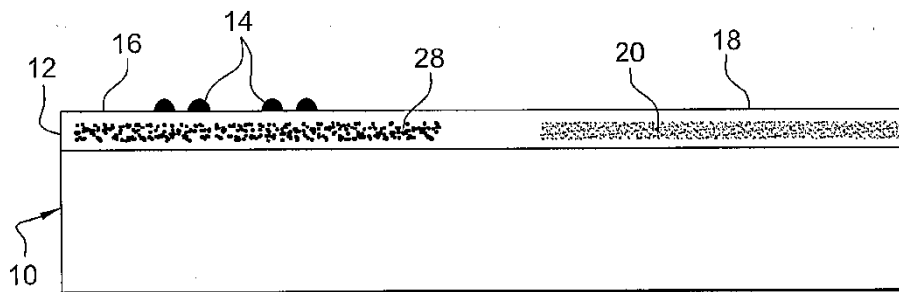


Fig. 6

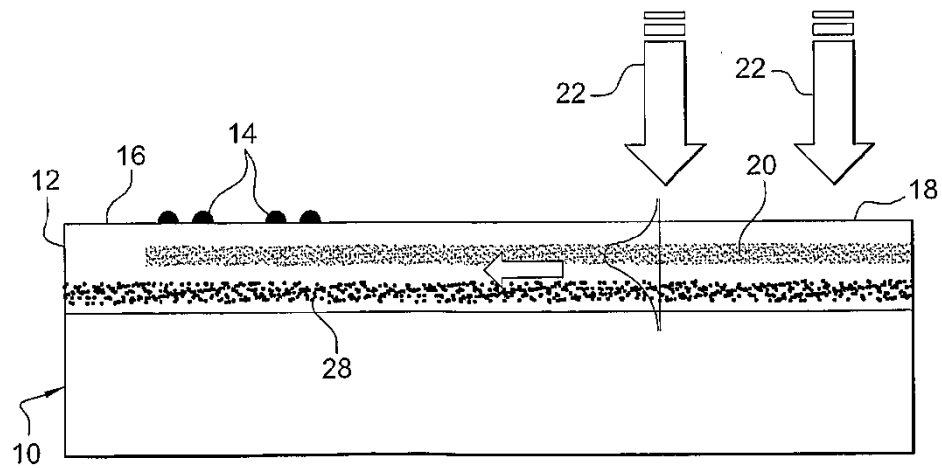


Fig. 7

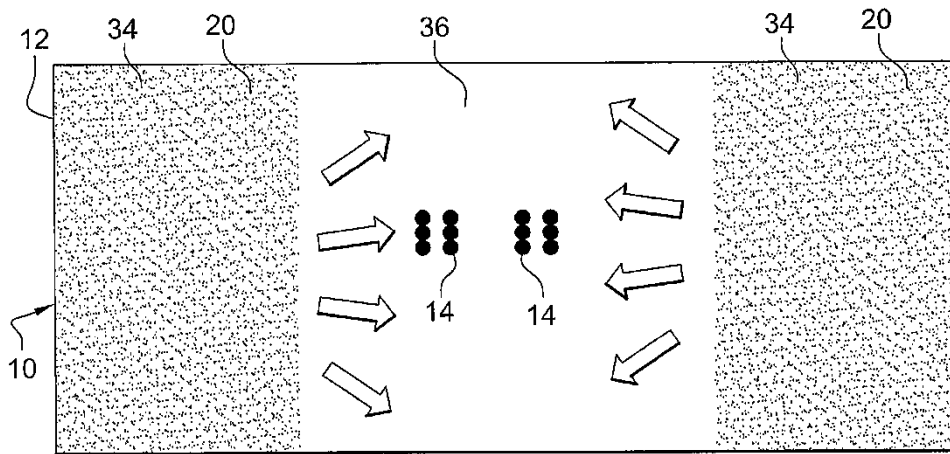


Fig. 8

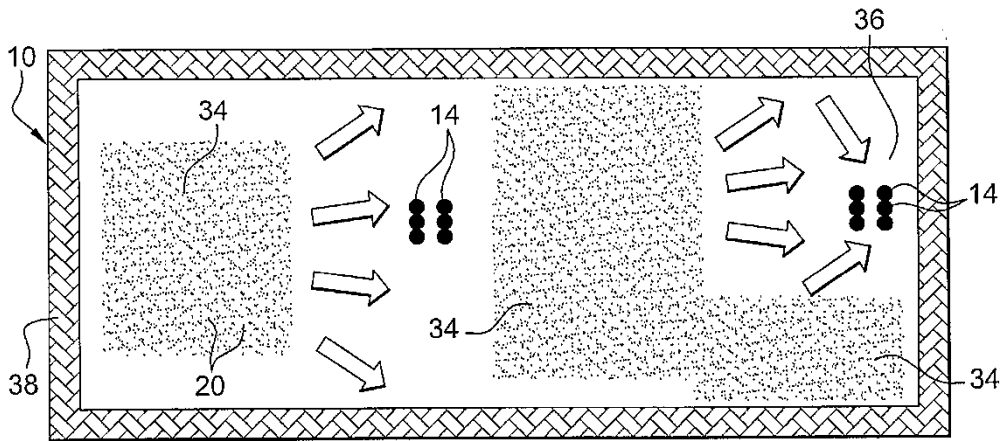


Fig. 9

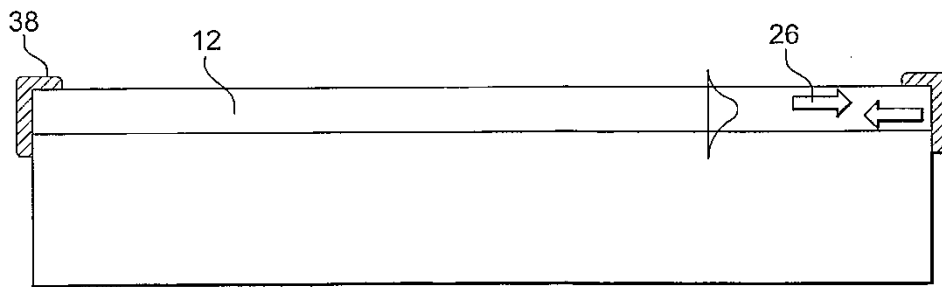


Fig. 10

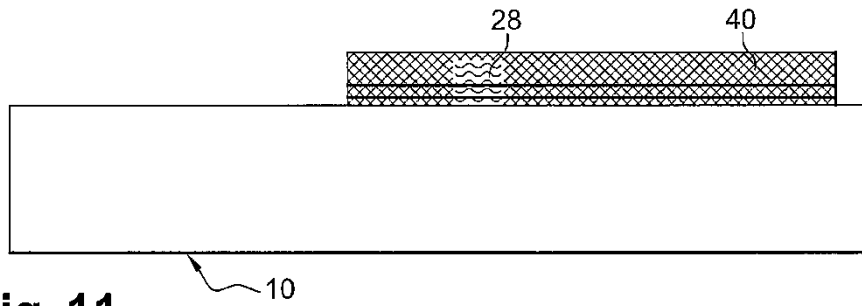


Fig. 11

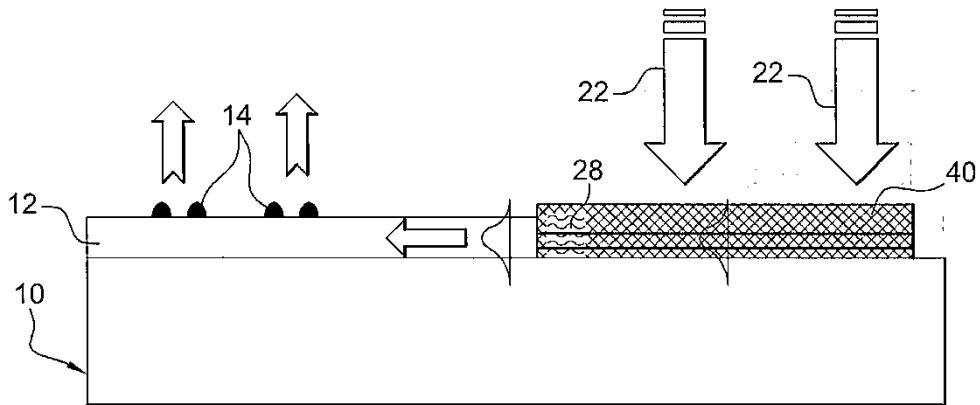


Fig. 12

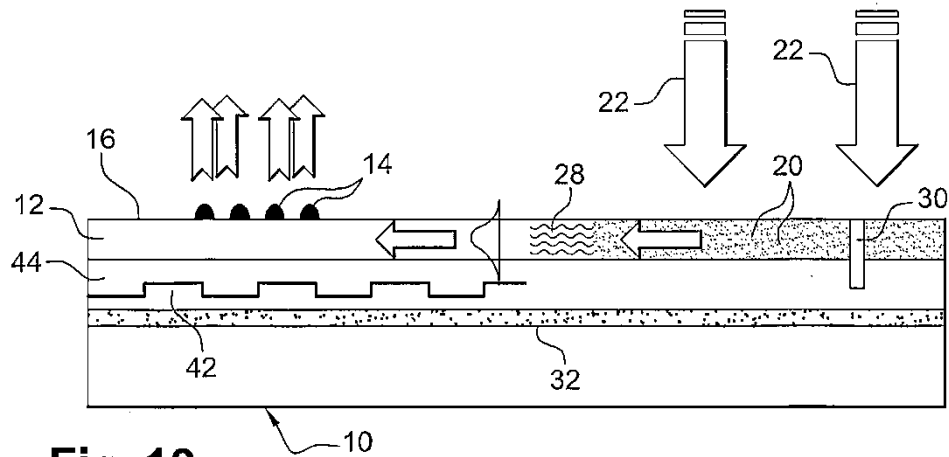


Fig. 13