

(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
14 de mayo de 2020 (14.05.2020)



(10) Número de publicación internacional
WO 2020/094898 A1

- (51) Clasificación internacional de patentes:
H01L 29/772 (2006.01) *A61B 5/00* (2006.01)
- (21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2019/070728
- (22) Fecha de presentación internacional:
28 de octubre de 2019 (28.10.2019)
- (25) Idioma de presentación: español
- (26) Idioma de publicación: español
- (30) Datos relativos a la prioridad:
P201831068 06 de noviembre de 2018 (06.11.2018) ES
- (71) Solicitantes: **CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS** [ES/ES]; C/ Serrano 117, 28006 Madrid (ES). **CONSORCIO CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN RED, M.P.** [ES/ES]; C/

Monforte de Lemos 3-5, Pabellón 11, 28029 Madrid (ES). **INSTITUCIÓ CATALANA DE RECERCA I ESTUDIS AVANÇATS (ICREA)** [ES/ES]; Pg. Lluís Companys, 23, 3^a pta., 08010 Barcelona (ES). **FUNDACIÓ INSTITUT CATALÀ DE NANOCIÈNCIA I NANOTECNOLOGIA (ICN2)** [ES/ES]; Carrer Serragalliners s/n, Campus de la UAB - Edificio, ICN2, 08193 Bellaterra (Barcelona) (ES). **INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS AUGUST PI SUNYER (IDIBAPS)** [ES/ES]; Calle Rosselló 149-153, 08036 Barcelona (ES).

(72) Inventores: **GUIMERÁ BRUNET, Antón**; INSTITUTO DE MICROELECTRONICA DE BARCELONA, C/ del Til·lers. Campus Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), 08193 Cerdanyola del Vallés, Bellaterra, BARCELONA (ES). **MASVIDAL CODINA, Eduard**; INSTITUTO DE MICROELECTRONICA DE BARCELONA, C/ del Til·lers. Campus Universitat Autònoma de Barcelona

(54) Title: SYSTEM OF GRAPHENE TRANSISTORS FOR MEASURING ELECTROPHYSIOLOGICAL SIGNALS

(54) Título: SISTEMA DE TRANSISTORES DE GRAFENO PARA MEDIR SEÑALES ELECTROFISIOLÓGICAS

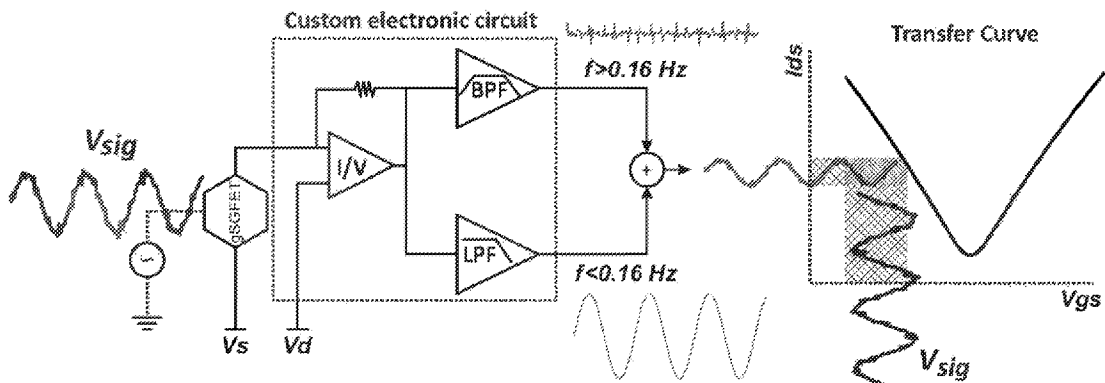


FIG. 2a

(57) Abstract: The invention is based on flexible matrices of graphene transistors with epicortical and intracortical field effects, which can register infraslow signals and signals in a bandwidth that is typical of local field potentials. The object of the invention is based on the graphene transistor system for measuring electrophysiological signals, comprising a processing unit and at least one graphene transistor with the graphene as the channel material contacted via two terminals, to which a variable voltage source is joined at the drain and source terminals of the transistor, with a reference as a gate terminal, and at least one filter for acquiring and dividing the signal of the transistor into at least two frequency bands, low and high, in which the first and second signals are amplified respectively with a gain value.

(57) Resumen: Basado en matrices flexibles de transistores grafeno de efecto de campo epicorticales e intracorticales, que pueden registrar señales infralentas y señales en un ancho de banda típico de potenciales de campo local. El objeto de la invención se basa en el sistema del transistor del grafeno para medir señales electrofisiológicas, comprendiendo una unidad de proceso, y al menos un transistor del grafeno con el grafeno como material del canal contactado por dos terminales, a los cuales se une una fuente de tensión variable en los terminales de drenador y de fuente del transistor referido a la tensión de la puerta, y al menos un filtro de adquisición y



WO 2020/094898 A1

(UAB), 08193 Cerdanyola del Vallès (Bellaterra) BARCELONA (ES). **VILLA SANZ, Rosa**; INSTITUTO DE MICROELECTRÓNICA DE BARCELONA, C/del Til·lers. Campus Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), 08193 Cerdanyola del Vallès (Bellaterra) BARCELONA (ES). **GARRIDO ARIZA, José Antonio**; FUNDACIÓ INSTITUT CATALÀ DE NANOCIÈNCIA I NANOTECNOLOGIA (ICN2), Carrer Serragalliners s/n, Campus de la UAB - Edificio, ICN2, 08193 Bellaterra, BARCELONA (ES). **ILLA VILA, Xavier**; CONSORCIO CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN RED, M.P., C/ Monforte de Lemos 3-5, Pabellón 11, 28029 Madrid (ES). **SANCHEZ VIVES, María Victoria**; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS AUGUST PI SUNYER (IDIBAPS), Calle Rosselló 149-153, 08036 BARCELONA (ES).

(74) **Mandatario: PONS ARIÑO, Angel**; Glorieta Rubén Darío 4, 28010 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, 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))*

SISTEMA DE TRANSISTORES DE GRAFENO PARA MEDIR SEÑALES
ELECTROFISIOLÓGICAS

DESCRIPCIÓN

5

OBJETO DE LA INVENCION

El objeto se inscribe al campo técnico de la física y, más concretamente, a la medida de señales eléctricas.

10

El objeto de la invención está destinado a un dispositivo, y un método usando este dispositivo, para la medida y registro de ciertas señales electrofisiológicas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15

Existe una gran necesidad de matrices flexibles, de gran escala y alta densidad con un ancho de banda de registro electrofisiológico amplio. Las matrices de electrodos flexibles, de gran escala y de alta densidad son estado del arte. Sin embargo, esas matrices no proporcionan registros de alta fidelidad en todo el ancho de banda de frecuencias de las señales electrofisiológicas.

20

Las señales electrofisiológicas existen en una amplia gama de frecuencias y de amplitudes: desde señales de minutos de duración y alta amplitud tales como la depresión cortical propagada hasta los potenciales de acción de microvoltios de amplitud y milisegundos de duración. El registro de toda la gama de señales electrofisiológicas con alta resolución espaciotemporal sería beneficioso para desentrañar su relación e interacciones y para asegurar que no se pierde información significativa.

25

30

La mayoría de las matrices de microelectrodos sufren derivas de tensión y oscilaciones que afectan su calidad de registro de las señales infralentas, cuya frecuencia es inferior a 0,1 Hz. Esto es tan ampliamente conocido, que la mayoría de los sistemas de registro incluyen filtros paso alto, para resolver problemas de saturación que pueden surgir debido a la deriva basal, a costa de excluir información fisiológica y patológica de ser registrada.

35

En los últimos años, ha habido un resurgimiento particular de interés en las fluctuaciones de la actividad cerebral a frecuencias inferiores a 0,1 Hz, comúnmente conocida como de actividad muy lenta, ultralenta o infralenta (ISA). Han sido sugeridas como indicadoras de los estados del cerebro (p- ej.: sueño, anestesia, coma, vigilia) y fueron encontradas correlaciones con las redes en estado de reposo medidas por resonancia magnética funcional. También pueden contribuir significativamente a la alta variabilidad observada de las señales fisiológicas.

Hay algunas señales infralentas reportadas, como las ondas de propagación cortical llamadas " depresión cortical propagada (CSD)" que sólo se registran a frecuencias muy bajas y por lo tanto es muy difícil estudiarlas de manera habitual debido al impedimento de los actuales electrodos. Las CSDs se definen como una ola de propagación lenta de la despolarización de las neuronas y astrocitos seguida de un período de supresión de la actividad cerebral y a menudo se desencadenan cuando hay un episodio cerebral como en los pacientes que tienen un accidente cerebrovascular o traumático, así como en migrañas y otras patologías cerebrales. Monitorizarlos o detectarlos podría mejorar el diagnóstico pero sobre todo influir en los cambios terapéuticos.

Los registros de banda completa, incluyendo las frecuencias infralentas, se han realizado tradicionalmente con técnicas no invasivas como el electroencefalograma (EEG) y el magnetoencefalograma (MEG). Sin embargo, su limitada resolución espacial y su señal promediada imponen serias limitaciones; por ejemplo, el EEG por sí solo no ha sido suficiente para la detección no invasiva de CDs. Por estas razones, las técnicas electrofisiológicas invasivas son las más comúnmente utilizadas para registrar las ondas cerebrales infralentas.

La correcta grabación de ISA requiere el uso de amplificadores de acoplamiento directo y electrodos invasivos extremadamente estables y de baja impedancia. Tradicionalmente, se utilizan micropipetas de vidrio llenas de líquido, que permiten sólo uno o pocos puntos de medida. Para el mapeado con una resolución espacial más alta, los electrodos no polarizables de plata / cloruro de plata (Ag/AgCl) podrían ser utilizados, ya que previenen la acumulación de carga en la interfaz y por lo tanto la deriva del voltaje, sin embargo, debido a la toxicidad de la plata, el uso de tales electrodos en humanos así como crónicamente en animales no es una opción. Esto ha

fomentado la búsqueda de materiales alternativos con baja impedancia y deriva, aunque ninguno de ellos ha sido encontrado capaz de ofrecer un rendimiento comparable a los electrodos de Ag/AgCl. Así, las grabaciones ISA en humanos se realizan actualmente con electrodos de platino, que dificultan la correcta detección de
 5 CSDs debido a artefactos y transitorios. Es importante destacar que la deriva basal en forma de oscilaciones de la línea base en las frecuencias infralentas, dificulta la determinación de sus características "verdaderas", como la amplitud o la forma de onda, ya que cualquier filtro de paso alto utilizado para eliminar tales efectos alterará la forma de la señal.

10

Otra limitación intrínseca de la tecnología de microelectrodos se debe a la relación entre la impedancia del microelectrodo y la impedancia de entrada del equipo de registro (Z'_e and Z'_a , respectivamente).

15 La señal registrada (V_{in}) es determinada por el divisor de voltaje formado por ambas impedancias:

$$V_{in}(f) = I(f)Z'_a(f) = \frac{V_{sig}(f)Z'_a(f)}{Z'_a(f)+Z'_e(f)} \quad (1)$$

20 la Eq. (1) implica que cuando Z'_a , no es substancialmente mayor que Z'_e , la señal registrada será atenuada y desfasada con respecto a V_{sig} . Incluso usando amplificadores de alta impedancia de entrada, para microelectrodos de oro de 50 μm de diametro, se espera una atenuación de más del 50%. Es importante remarcar que el requisito $Z'_a \gg Z'_e$ para tener una ganancia en voltaje igual a 1 se ve comprometido
 25 cuando el área del electrodo se reduce, debido a la relación inversa entre la impedancia del electrodo y su área, resultando en el filtrado paso alto de las señales registradas.

Por lo tanto, la reducción del tamaño de los electrodos para conseguir una resolución
 30 espacial más alta causa el filtrado paso alto intrínseco de ISA debido al incremento de impedancia del electrodo asociado.

Las técnicas ópticas invasivas como la imagen de calcio se usan para monitorizar ISA, pero aún hoy en día tienen serios problemas para resolver la actividad de alta

frecuencia para un gran número de neuronas y su necesidad intrínseca de indicadores limita su traslación a la clínica. Por lo tanto, aún falta una técnica que permita medir registros de señales que incluyan las frecuencias infrabajas a gran escala y resolución espaciotemporal de forma potencialmente implantable, no tóxica y en formato clínico.

5

Como alternativa a la comúnmente utilizada tecnología de electrodos, el registro de señales neuronales con transistores de efecto de campo (FET) ofrece diversas ventajas incluyendo que son menos sensibles al ruido ambiental gracias a su amplificación voltaje-corriente intrínseca, y a que pueden ser fácilmente multiplexados.

10

Sin embargo, las dificultades para combinar una alta capacitancia de puerta y una alta movilidad en transistores de silicio en sustratos flexibles han obstaculizado históricamente su uso para los registros *in vivo*. Los transistores de efecto de campo basados en grafeno con puerta líquida (gSGFETs) se han propuesto para superar potencialmente los inconvenientes anteriores. La flexibilidad del grafeno permite incluir gSGFETs en sustratos ultra-blandos y flexibles sin pérdida de rendimiento, mientras que su amplia ventana electroquímica y biocompatibilidad permite el contacto directo con fluidos biológicos y tejidos y garantiza una operación segura en condiciones *in vivo*. Además, la naturaleza bidimensional de grafeno repercute en la proporción más alta de la superficie a volumen posible, haciendo el grafeno muy sensible a las cargas en su superficie. Importantemente, la respuesta frecuencial de la transconductancia de un gSGFET, es plana en un ancho de banda ancho incluyendo frecuencias infralentas.

15

20

Por otra parte, los transistores de efecto de campo basados en grafeno (g-SGFETs) han sido ampliamente investigados como potenciales biosensores para diversos analitos, como en WO2011004136A1 donde se divulga un sensor para detectar la presencia de al menos un molécula biológica y un método para la producción de tal sensor que comprende una estructura de grafeno litografiada, por lo menos dos contactos eléctricos dispuestos en contacto con la estructura de grafeno litografiada para determinar una conductividad; y por lo menos un enlazador atado a por lo menos una porción de la estructura de grafeno litografiada, en donde por lo menos un enlazador tiene una afinidad obligatoria para al menos una molécula biológica.

25

30

35

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención aborda la necesidad de matrices flexibles, de gran escala y alta densidad con un ancho de banda de registro electrofisiológico amplio. El objeto de la invención se basa en un transistor de efecto de campo grafeno (gSGFETs) preferiblemente una matriz de transistores de grafeno de efecto de campo (gSGFETs) que son capaces de registrar señales infralentas junto con señales en el ancho de banda típico de los potenciales de campo locales. El transistor de efecto de campo de grafeno (gSGFETs) se coloca preferiblemente en posiciones epicorticales e intracorticales.

La invención actual supera simultáneamente los desafíos restantes en el estado del arte previo proporcionando una mayor estabilidad que surge de la inercia electroquímica del grafeno, como también sobrepasa la atenuación de la señal debido al divisor de impedancia presente en los sistemas de registro de electrodos mediante el uso de un transistor como elemento de registro.

El transistor de efecto de campo de grafeno (gSGFETs) de la presente invención es fabricado usando el substrato flexible para superar la dificultad en la conformidad a la geometría de diversas estructuras biológicas, por lo tanto el transistor de efecto de campo de grafeno (gSGFETs) es preferiblemente flexible. También, cuando está dispuesto en una matriz, dicha matriz se diseña de una manera extensible tal que los transistores puedan ser escalados de tamaños micro a macro según lo necesitado con diversos tipos de contactos eléctricos, tales como éstos que se sientan en la superficie del tejido (en opuesto a penetrante).

Por lo tanto, el sistema de transistor de grafeno para medir señales electrofisiológicas de la invención abarca una unidad de proceso, y por lo menos un transistor del grafeno (gSGFET) que abarca el grafeno como material del canal puesto en contacto por dos terminales, a los cuales se conecta una fuente del voltaje variable en los terminales del drenador y de la fuente del transistor (gSGFET) referidas al voltaje de la puerta, y al que al menos un filtro es conectado (un filtro de paso bajo (LPF) con de 104 [V/A] configurado para generar una banda filtrada de paso bajo con una frecuencia ajustada entre 0Hz y 0,16 Hz o un filtro de paso banda (BPF) con una ganancia de 106 [V/A] configurado para generar una banda filtrada con una frecuencia comprendida entre

0,16 Hz and 10 kHz) configurado para adquirir y dividir la señal del transistor en al menos dos bandas de frecuencia, banda de baja frecuencia y banda de alta frecuencia; siendo las primeras y segundas señales amplificadas respectivamente con un valor de ganancia.

5

El método y el aparato asociado de la invención tratan las necesidades antes mencionadas en el arte proporcionando una amplificación de las señales como también la capacidad de medir la curva de transferencia del transistor en el sitio de la grabación. Esto permite elegir el mejor punto de operación del transistor y aplicar una
10 metodología de calibración (conversión de corriente a tensión de la señal registrada) que asegura un registro de alta fidelidad en un amplio ancho de banda.

De las principales aplicaciones del objeto de la invención es el de monitorizar las ondas cerebrales en todo el ancho de banda; tanto en implementaciones de
15 investigación como clínicas como en neurología. Las mismas ventajas existen para aplicaciones a otros sistemas biológicos fuera del cerebro, como el corazón, riñones, estómago, nervios craneales y otras regiones. La flexibilidad y versatilidad de las matrices de transistores de grafeno permiten distintas aplicaciones e implementaciones que van de dispositivos subdurales, epidurales o intracorticales a
20 otras localizaciones en el cerebro, nervios craneales y periféricos, corazón, vasos sanguíneos, médula espinal y otras estructuras biológicas o localizaciones no invasivas similares a un electroencefalograma.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

25

Para complementar la descripción hecha y en orden de ayudar a un mejor entendimiento de las características de la invención, se representa, de acuerdo con el ejemplo de la implementación preferente, un conjunto de figuras como parte integral de la descripción donde, con carácter ilustrativo y no limitativo, se representa lo siguiente.

30

Figuras 1a-1g.- Representan: tecnología y caracterización de una matriz de transistores de grafeno de efecto de campo.^{1ª} Un esquema de un transistor de grafeno polarizado en modo de puerta comuna. 1b: Imágenes de microscopía del área activa de las matrices de 4x4 gSGFET y de la de 15 canales intracortical. 1c: Una fotografía del dispositivo neuronal. 1d: Caracterización de estado estacionario de una matriz de 100x50- μm^2
35

gSGFETs en tampón fosfato (10mM) y con un voltaje drenador-fuente (V_{ds}) de 50 mV. 1e Un gráfico que muestra las curvas de transferencia de los gSGFETs, corriente drenador-fuente (I_{ds}) vs voltaje puerta-fuente (V_{gs}), junto con la media (curvas oscuras) y la desviación estándar (curvas claras). El diagrama de caja inserto muestra la dispersión del punto de carga neutra (línea central, mediana; límites de la caja, cuartiles superior e inferior). 1e Un gráfico para el corriente de pérdidas (I_{gs}) de todos los gSGFETs de la matriz. 1f: Un gráfico para la curva de transferencia (cuadrados azules y línea) y su primera derivada (transconductancia (g_m), línea negra) de un gSGFET. 1g Un gráfico de la respuesta frecuencial a dos puntos distintos de la curva de transferencia (e): V_{gs} más pequeños que el CNP (verde), donde g_m es negativa resultando en una inversión de la señal (fase de 180°); y V_{gs} mayor que el CNP (naranja), donde g_m es positiva i por tanto resulta en la no inversión (fase de 0°). Independientemente de la rama de la curva de transferencia donde se polarice un gSGFET, el modulo de g_m es similar al valor de estado estacionario para un amplio ancho de banda ($\approx 0 - 1$ kHz).

15

Figuras 2a-2d.- Muestran una implementación preferente de la invención incorporando un gSGFET, el circuito electrónico personalizado y la metodología de postprocesado así como ejemplos de las señales registradas. 2a, Esquema del sistema de registro de gSGFETs y metodología de postprocesado. El circuito electrónico personalizado se usa para realizar la caracterización in vivo (curva de transferencia) y para registrar el corriente del transistor en la banda pasa bajo (LPF) y la banda pasa banda (BPF). De la combinación de las dos señales y teniendo en cuenta la conversión corriente a voltaje, se obtiene la señal de amplia banda (V_{sig}). 2b, Registros electrofisiológicos obtenidos con una matriz epicortical durante la inducción de cuatro eventos (resaltado azul). De arriba a abajo: señal en corriente LPF, señal en corriente BPF y señal convertida a voltaje de amplia banda.

20

25

Figura 3.- Muestran una implementación ejemplar del circuito eléctrico. a, Esquema de la instrumentación electrónica que controla la polarización de los gSGFETs (V_{gs} , V_{ds}) y amplifica de forma distinta las dos bandas mencionadas anteriormente: LPF ($\approx 0-0.16$ Hz, ganancia= 10^4) y BPF (0.16 Hz-10 kHz, ganancia= 10^6). Se usa el circuito eléctrico para caracterizar el comportamiento de estado estacionario de los gSGFETs así como la modulación AC de los transistores de grafeno.

30

Figura 4.- Muestra el procedimiento de calibración de los registros de corriente de los gSGFETs para recuperar la señal de voltaje a la puerta. a, Registros de corriente de los gSGFETs de una señal sinusoidal a la puerta de 10 Hz y 0.85 mV de pico aplicada a través de un electrodo de referencia. Los transistores de grafeno están polarizados a $V_{ds}=50\text{mV}$ y $V_{gs}=250\text{mV}$. b, Curva de transferencia de los mismos transistores de grafeno a $V_{ds}=50\text{mV}$. La línea de puntos indica el voltaje V_{gs} usado en a. c, Señal en voltaje obtenida por interpolación de la señal en corriente (a) de cada transistor en su correspondiente curva de transferencia y después de restar el V_{gs} offset.

Figura 5.- Muestra el mapeo con transistores de grafeno de depresiones corticales propagadas. a, Señales de frecuencia infrabajas registradas por una matriz de 4x4 gSGFETs con 400 μm de espaciado (líneas negras) durante un evento de CSD tal como se ilustra en el esquema superior izquierdo. El dibujo de líneas de contorno muestra las diferencias temporales entre el inicio de la CSD con respecto al tiempo medio ilustrando el curso espaciotemporal de la CSD. b, Mapas espaciales interpolados mostrando la propagación del mismo evento de CSD medido por el array de gSGFETs. a,b Registros filtrados pasa alto a 0.1 hz (líneas rojas en a y mapas espaciales de voltaje en b) se incluyen para ilustrar la pérdida de información en los registros convencionales de microelectrodos.

Figuras 6a, 6b.- Muestran el perfil en profundidad del voltaje de frecuencias infralentas inducidas por la depresión cortical propagada en el cortex de rata. a, Diseño de un dispositivo intracortical de 15 canales y los registros ordenados de potenciales de campo locales. Registros de frecuencia infrabaja (líneas negras) durante la ocurrencia de un evento de CSD. Las líneas de rayas han sido interpoladas de transistores cercanos. b, Mapas de colorados del curso temporal de los cambios de voltaje infralentos durante una CSD en la profundidad del cortex de rata. a-b, Las misma señal filtrada a 0.1 Hz (líneas rojas) y su correspondiente mapa espaciotemporal se han incluido para ilustrar la pérdida de información en los registros convencionales de microelectrodos.

30

MODO DE REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION

Un primer aspecto de la invención está destinado a un sistema para registro electrofisiológico de señales infralentas como la depresión cortical propagada (CSD), i.e. aquellas con una frecuencia inferior a 0.1Hz; el dispositivo comprende una

35

unidad de procesamiento asociada o incluida en el dispositivo y al menos un transistor de grafeno (gSGFET), preferiblemente una matriz de transistores de grafeno, comprendiendo el grafeno como material del canal contactado por terminales de fuente y drenador, con una referencia como terminal de puerta. Este transistor de grafeno está conectado como mínimo a un filtro pasa bajos (LPF). La señal registrada en corriente se transforma a voltaje usando la curva de transferencia $I_{ds} - V_{gs}$ adquirida al inicio de los registros.

En una implementación alternativa, al menos un filtro pasO banda (BPF) se implementa ya sea secuencialmente o en cascada junto a un filtro pasa bajo (LPF), ambos filtros siendo configurados para que los puntos de corte respectivos tengan el mismo valor.

Un gSGFETS es un dispositivo en el que el grafeno se utiliza como material de canal, contactado por dos cables metálicos (terminales de fuente y drenador), y se sumerge en una solución con electrolitos donde se utiliza un electrodo de referencia como terminal de puerta (Fig. 1A). Se produjeron sondas flexibles que contenían matrices de gSGFETs en diseños tanto epicortical como intracortical. En particular, se diseñó una matriz 4x4 de 100 μm de ancho por canales de grafeno de 50 μm de largo para registros epicortical, mientras que un diseño consistente en una matriz lineal de 15 canales de grafeno (80 μm de ancho, 30 μm de longitud) se utilizó para registros intracorticales (Fig. 1B). Ambos diseños de matrices se fabricaron en una capa de poliimida de 10 μm de grosor recubierta en una oblea de silicio de 4 pulgadas. Las matrices gSGFET flexibles se colocaron en conectores de cero fuerza de inserción para la interconexión con la electrónica de registro (Fig. 1C). La curva de transferencia, la corriente de drenaje (I_{ds}) contra el voltaje de fuente de compuerta (V_{gs}), de todos los gSGFETs en cada matriz se midió con un voltaje fijo de fuente de drenaje (V_{ds}). La dispersión del punto de neutralidad de carga (CNP = $243.6 \pm 6,1$ mV), que es el mínimo de la curva de transferencia, indica la homogeneidad de los transistores (Fig. 1D). Importantly, puesto que el sesgo de V_{gs} y V_{ds} se comparte, la dispersión pequeña de CNP permite el funcionamiento casi-óptimo de la grabación para todos los gSGFETs en el mismo dispositivo. La Figura 1E muestra la suma de la corriente de pérdidas (I_{gs}) para todos los gSGFETs en la matriz, que está en el rango de nA a lo largo del barrido de voltaje, demostrando el buen aislamiento de la capa de pasivación y la reactividad insignificante del grafeno. Además, se midió la respuesta frecuencial

de la transconductancia (g_m) de un gSGFET, que indica la eficiencia del acoplamiento de señal ($(I_{ds})/(V_{gs})$), obteniendo valores constantes en un ancho de banda amplio incluyendo las frecuencias infralentas (Fig. 1F-G). El g_m negativo para los valores de VGS más bajos que el CNP resulta en una inversión (fase de 180°) de las señales medidas; para los valores de VGS más altos que el CNP la fase de la señal se preserva.

El dispositivo de la invención fue comparado a los registros filtrados convencionales del alto-paso, para ello la propagación de los acontecimientos de depresión cortical propagada (CSD) se mapeó usando una matriz epicortical de 4x4 gSGFET y después comparada con lo que se observa en registros convencionales filtradas de paso alto (Fig. 5a-b). El registro de todo el evento CSD con la matriz gSGFET revela que mientras que el inicio del cambio negativo es similar para todos los gSGFETs, hay mucha más variedad en la recuperación subsiguiente, con algunos transistores que exhiben un segundo cambio negativo con mayor amplitud que la primera. Este efecto también se puede observar en los últimos fotogramas (correspondientes a 80 s y 90 s) de los mapas espaciales de las grabaciones gSGFET (Fig. 5b) donde áreas cerebrales recuperadas y aún deprimidas coexisten. Es importante destacar que esta información se pierde en los registros convencionales de microelectrodos, donde sólo se observa el inicio de la CSD debido al filtro de paso alto en la electrónica de grabación. Los resultados siguientes se refieren a una muestra de 10 CSDs recogidas en la corteza somatosensorial de dos sujetos distintos: encontramos que la duración media de los acontecimientos de CSD es $47,24 \pm 7,65$ s y una velocidad de la propagación de $7,68 \pm 1,35$ mm/min, de acuerdo con la literatura que define las CSDs como ondas cerebrales infralentas.

Para ilustrar aún más el potencial del dispositivo de la invención y aprovechando la versatilidad de diseño ofrecida por esta tecnología, se diseñó una matriz lineal de 15 gSGFETs que abarcan toda la profundidad de la corteza (Fig. 6A). Desde la grabación ordenada o el mapa de tensión espaciotemporal (Fig. 6B), se puede ver cómo se produce el CSD en toda la profundidad de la corteza. Estos resultados resaltan la capacidad del dispositivo de la invención para revelar el rico patrón de señales infralentas en la corteza; en este caso particular, se observa claramente una transición de una depolarización superficial larga a una más corta precedida y seguida por una hiperpolarización en las capas más profundas. El origen de tal efecto no se entiende

bien y será el blanco de otras investigaciones, aprovechando la capacidad demostrada de la tecnología de gSGFET para monitorear el ISA con alta resolución espacial.

En un segundo aspecto de la invención, se proporciona un método para registrar las
5 señales cerebrales infralentas, siendo señales infralentas esas con un valor de la frecuencia debajo de 0.1 Hz. La depresión cortical propagada (CSD) fue elegida para ilustrar las capacidades del objeto de la invención para registrar en un ancho de banda amplio. Experimentalmente, dos craneotomías fueron realizados sobre el hemisferio izquierdo de ratas Wistar anestesiadas con Isoflurano: una craneotomía más grande
10 sobre la corteza somatosensorial primaria, donde se colocó el dispositivo epicortical, y una más pequeña en la corteza frontal, donde se aplicó localmente 5 mM KCl para inducir CSD (Fig. 2B). Un circuito electrónico personalizado nos permitió registrar simultáneamente en dos bandas de frecuencias: banda filtrada de paso bajo (LPF, \approx 0-0.16 Hz) y banda filtrada de paso de banda (BPF, 0,16 Hz-10 kHz) con diferentes
15 ganancias (104 y 106 respectivamente) para evitar la saturación del amplificador debido a la alta amplitud de la señal CSD. En un primer conjunto de experimentos, registramos las señales de corriente LPF y BPF con una matriz epicortical de gSGFET durante la inducción de eventos CSD (Fig. 2C). Los transistores del grafeno fueron polarizados en el régimen de conducción de huecos de electrones, es decir $V_{GS} <$
20 CNP (GM negativo); por lo tanto, las señales de corriente LPF y BPF registradas se invierten con respecto a la señal de tensión que se produce en la puerta. La señal del LPF muestra el acontecimiento muy lento del CSD mientras que la señal del BPF corresponde al potencial del campo local, revelando el silenciamiento de la actividad típica de la depresión cortical propagada. Después de la suma de las señales LPF y
25 BPF y luego transformando la corriente en una señal de tensión (utilizando la curva de transferencia de transistor I_{ds} - V_{GS} adquirida in vivo antes del inicio de los registros), se puede obtener la señal electrofisiológica de banda ancha (ver Fig. 2 a, c). En cada acontecimiento del CSD un pequeño cambio positivo de 1-2 mV, generalmente precede la depresión, inmediatamente después de lo cual un cambio negativo
30 escarpado (\approx 20 mV) puede ser observado, que se recupera lentamente durante los minutos siguientes. El silenciamiento de la actividad de alta frecuencia asociado a la CSD y su recuperación progresiva se muestra en la onda de voltaje y espectrograma de la Figura 2d.

REIVINDICACIONES

1. Sistema de transistores de grafeno para medidas de señales electrofisiológicas, que comprende:
 - 5 a. una unidad de procesamiento, y
 - b. como mínimo un transistor de grafeno (gSGFET) que comprende grafeno como material del canal contactado por dos terminales, siendo el dispositivo caracterizado por tener conectado al transistor de grafeno (gSGFET):
 - 10 a. una fuente de voltaje variable a los terminales de drenador y fuente del transistor de grafeno (gSGFET) referido al voltaje de puerta, y
 - b. como mínimo un filtro configurado para adquirir y separar la señal del transistor en al menos dos bandas frecuenciales, bandas de alta y baja frecuencia, donde la primera y segunda señales son amplificadas respectivamente con un valor de ganancia.
2. Sistema de transistores de grafeno para medidas de señales electrofisiológicas de acuerdo con la reivindicación 1 donde el filtro es configurado para generar:
 - 20 a. una banda filtrada paso-bajo con un rango de frecuencias de 0Hz a 0.16 Hz, y
 - b. una banda filtrada paso-banda con un rango de frecuencias de 0.16 Hz a 10 kHz.
3. Sistema de transistores de grafeno para medidas de señales electrofisiológicas con un amplio ancho de banda de acuerdo con la reivindicación 2 donde el filtro paso bajo (LPF) y el filtro paso banda (BPF) tienen distintas ganancias; 10^4 [V/A] and 10^6 [V/A] respectivamente.
- 30 4. Método para medidas de señales electrofisiológicas usando el sistema de transistores de grafeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, el método siendo caracterizado por comprender:
 - a. separar una señal de entrada en señales de baja y alta frecuencia por medio de un filtro,
 - b. unir las señales de baja y alta frecuencia pesadas por su correspondiente ganancia, y
- 35

- c. transformar la señal de corriente en voltaje de acuerdo con la ganancia intrínseca del transistor.
5. Método de acuerdo con la reivindicación 4, donde el valor de ganancia de la
5 amplificación es distinta para cada señal.
6. Método de acuerdo con la reivindicación 4, donde la transformación a una
señal de voltaje se realiza por medio de una interpolación usando la curva de
transferencia $I_{ds} - V_{gs}$ del transistor de grafeno.
- 10 7. Método de acuerdo con la reivindicación 6, donde la curva de transferencia I_{ds}
- V_{gs} del transistor de grafeno es generada con un valor fijo de voltaje de
drenador-fuente (V_{ds}).

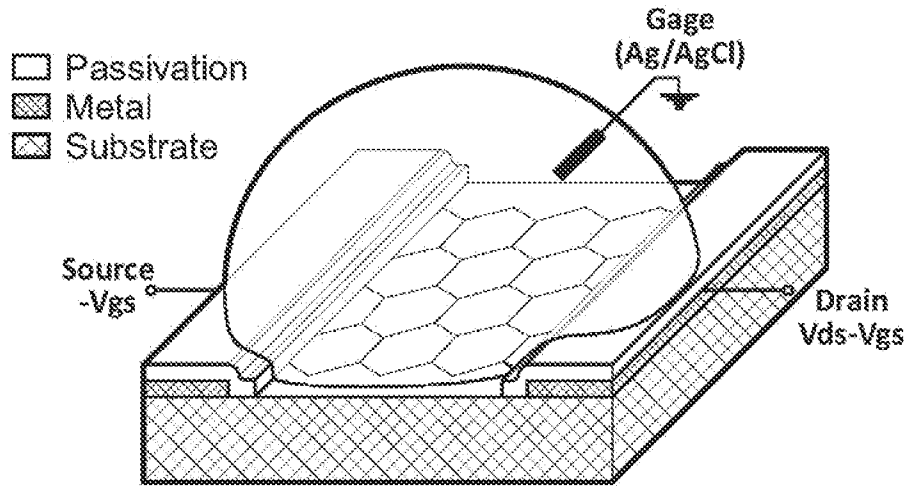


FIG. 1a

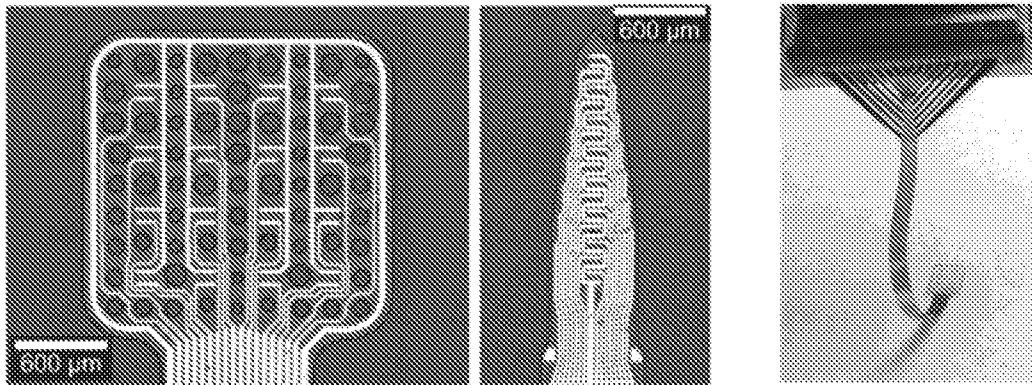


FIG. 1b

FIG. 1c

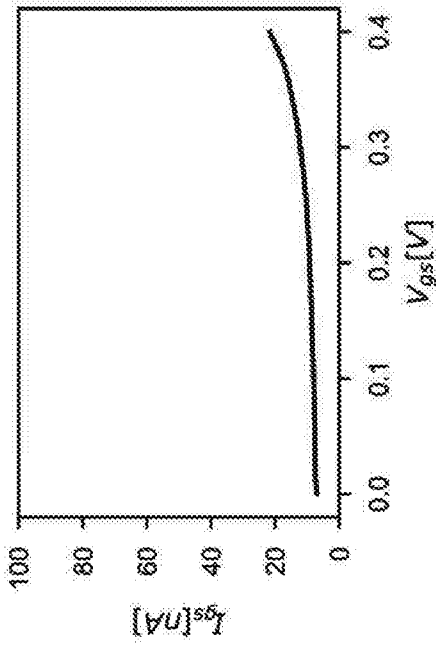


FIG. 1e

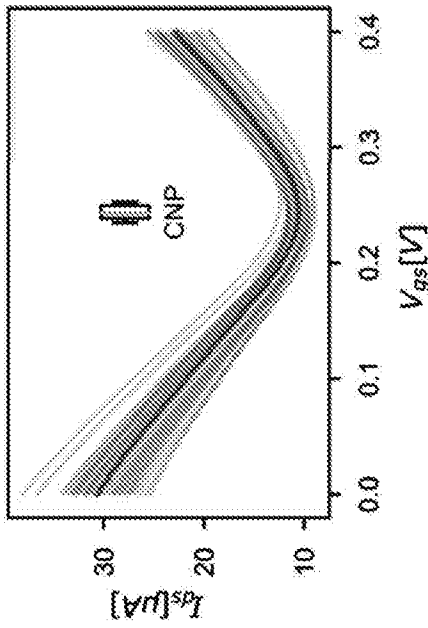


FIG. 1d

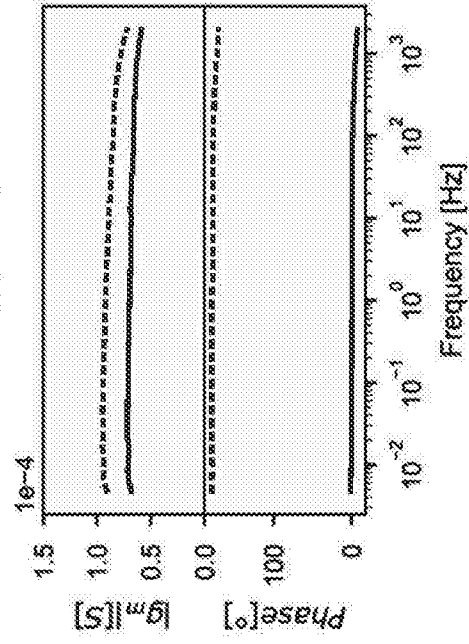


FIG. 1g

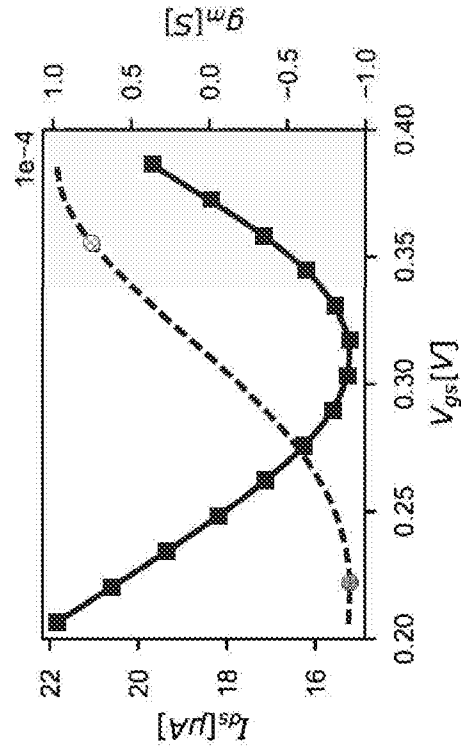


FIG. 1f

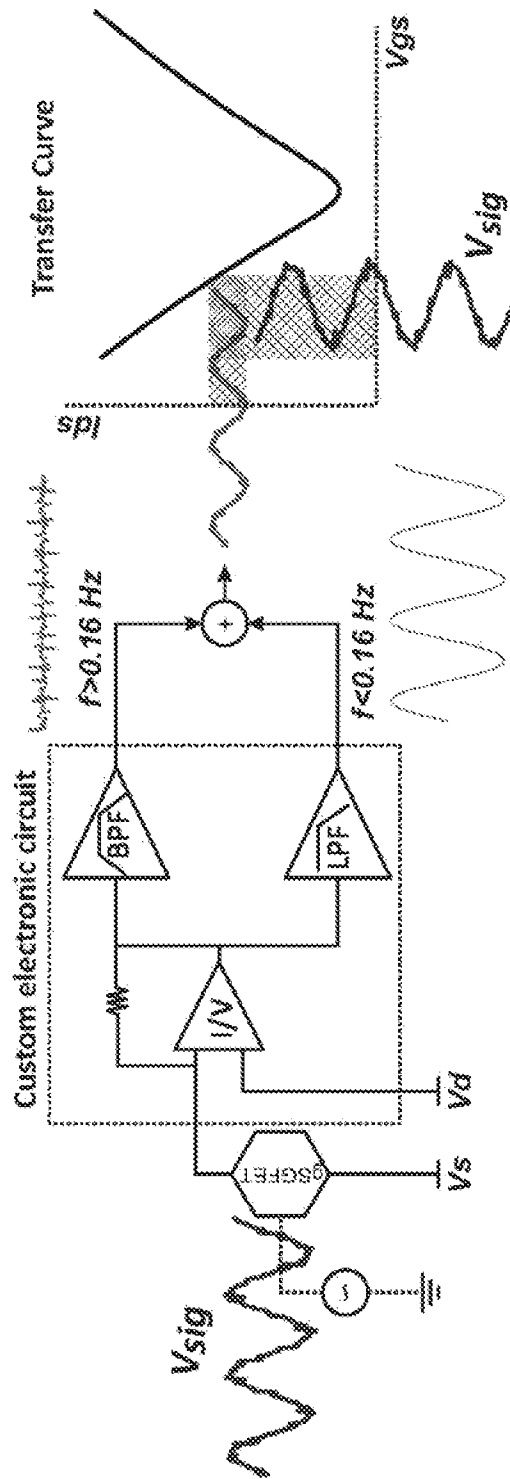


FIG. 2a

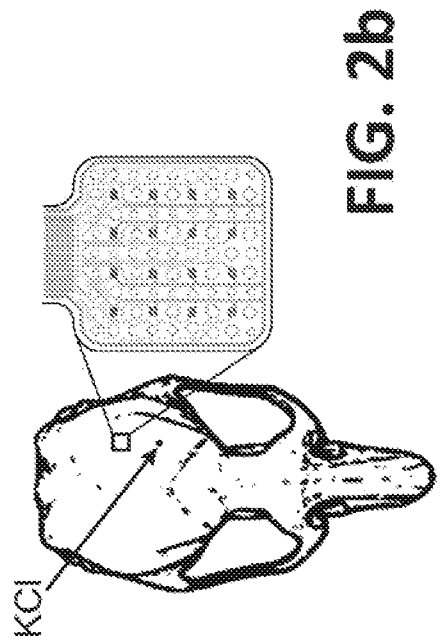


FIG. 2b

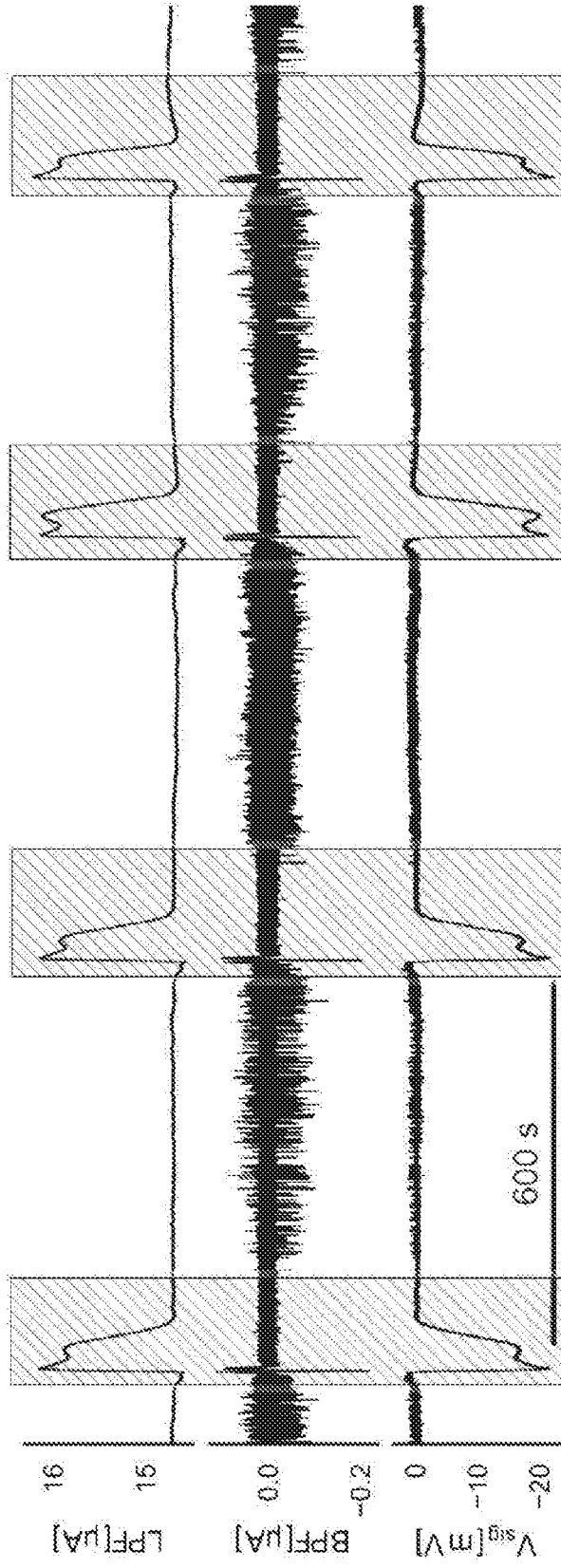


FIG. 2c

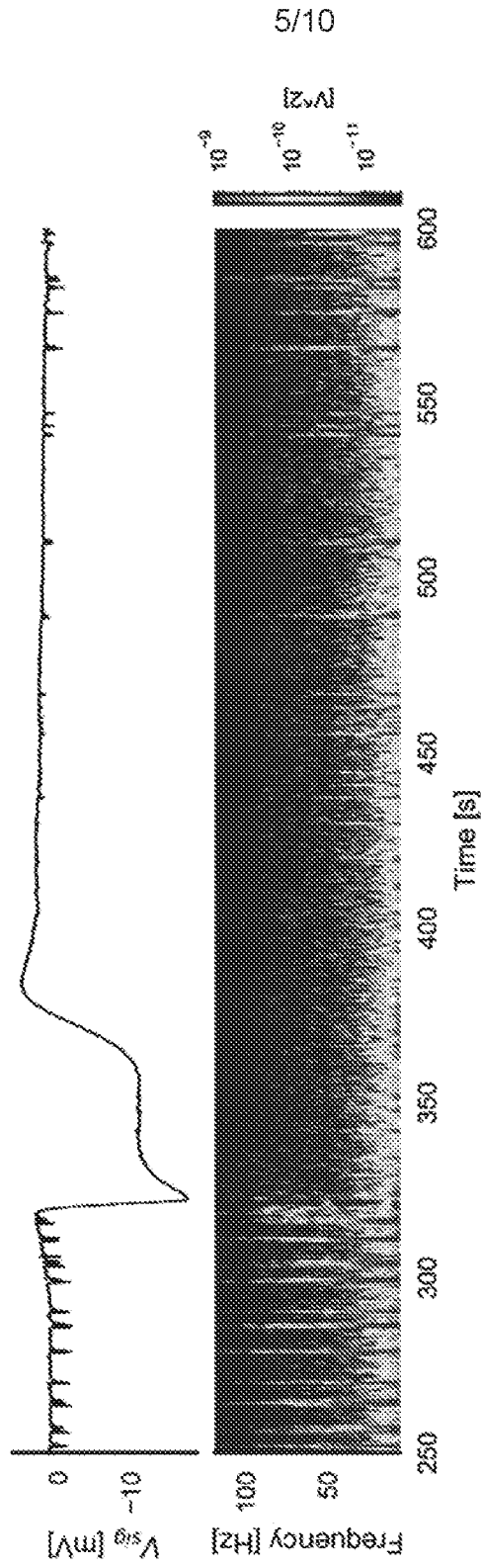


FIG. 2d

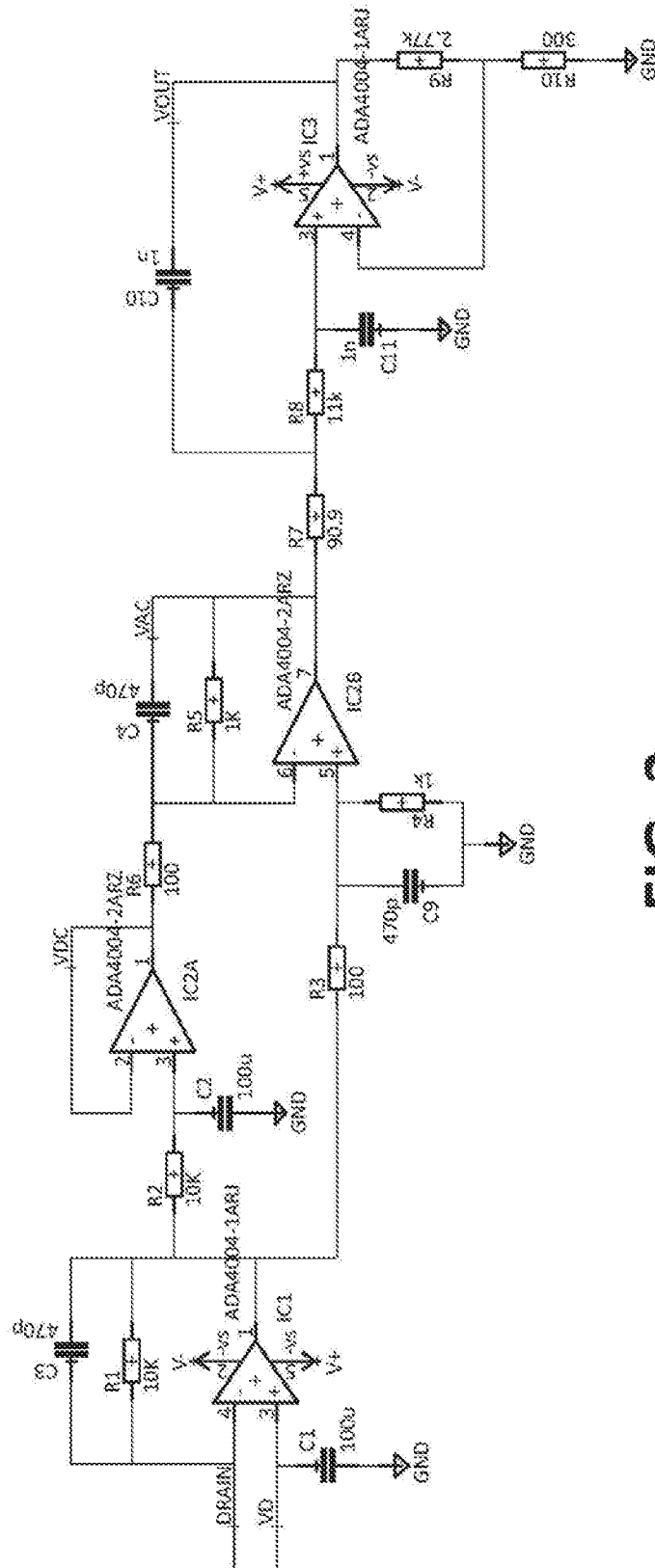


FIG. 3

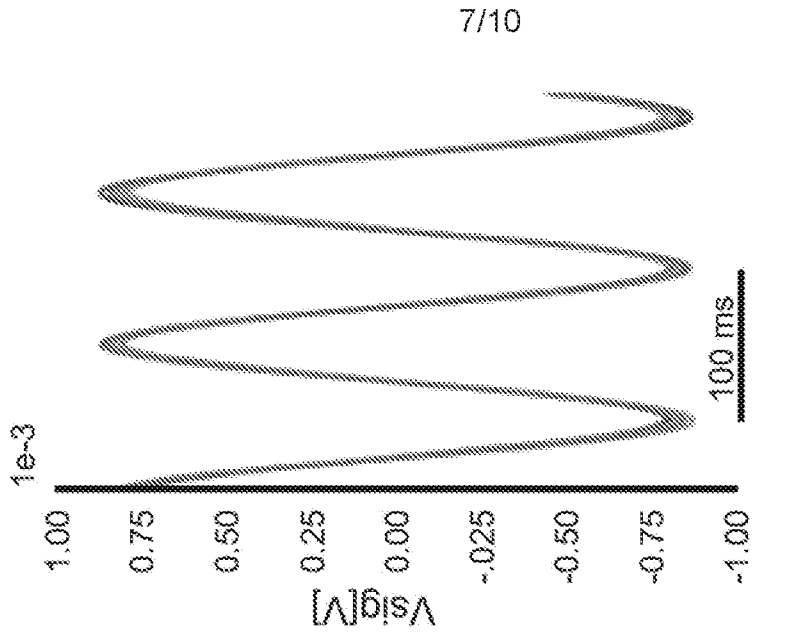


FIG. 4c

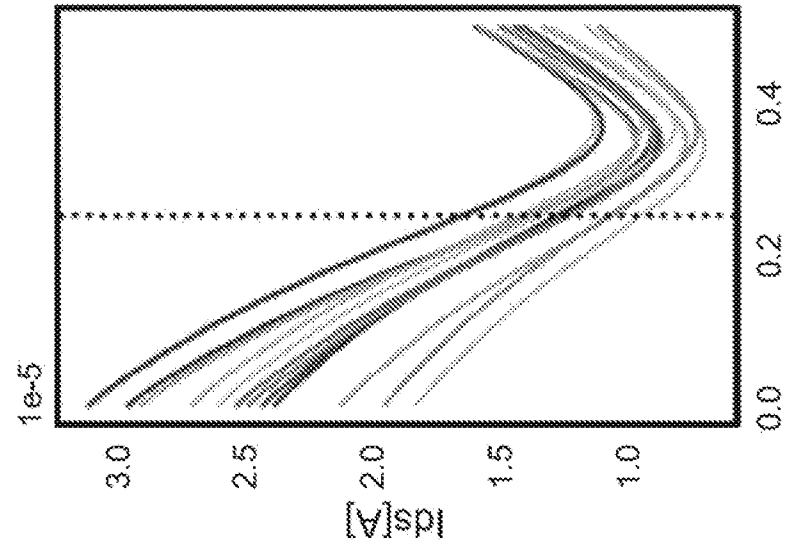


FIG. 4b

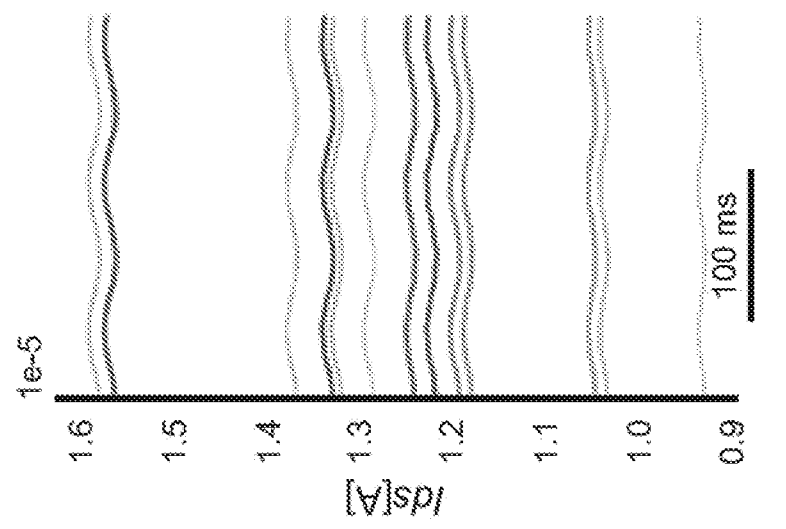


FIG. 4a

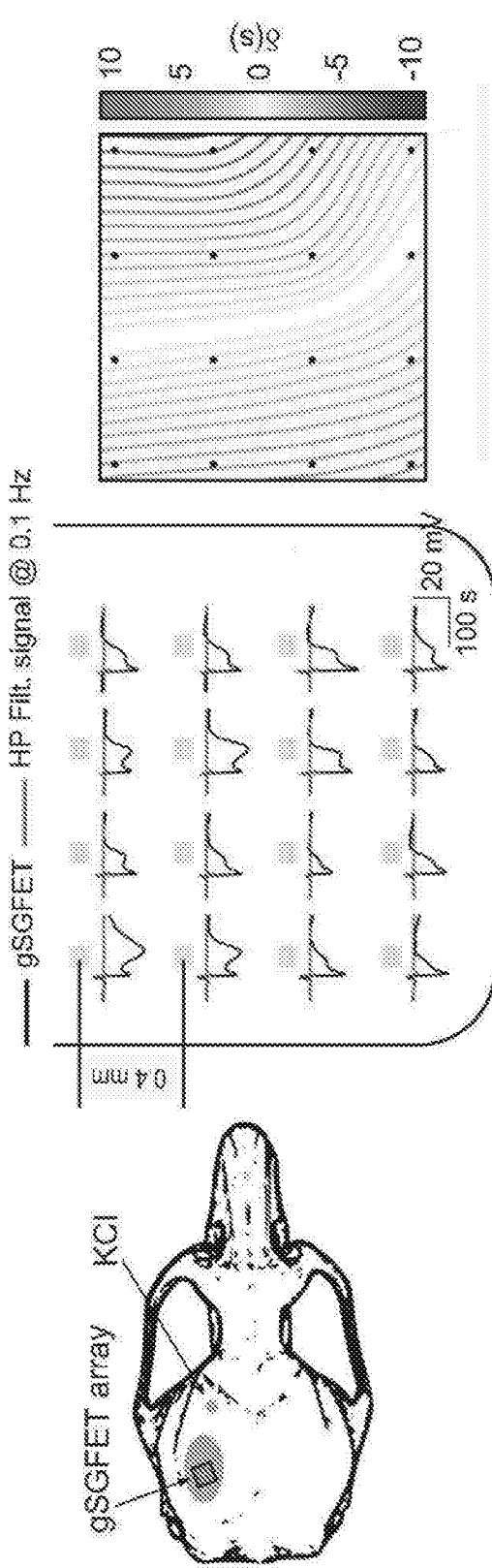


FIG. 5a

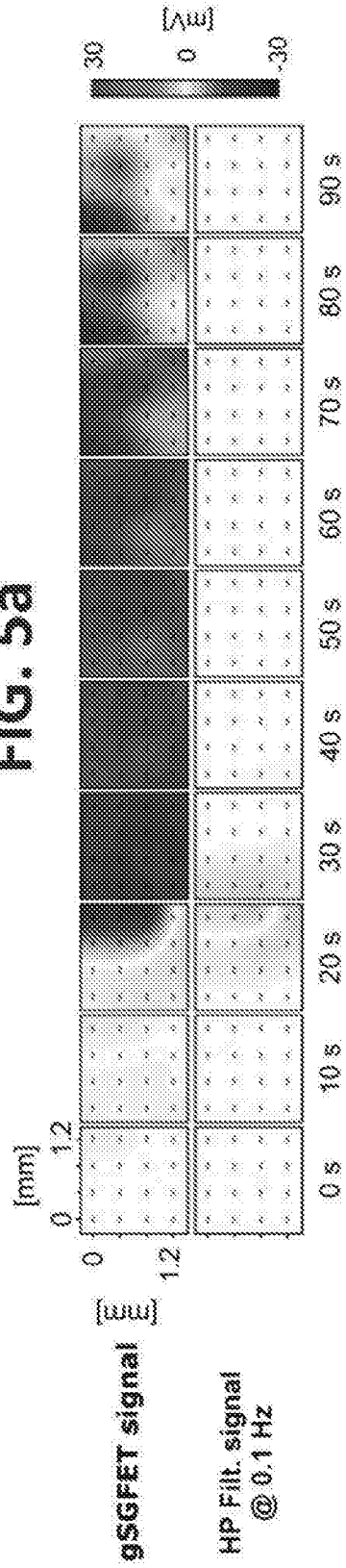


FIG. 5b

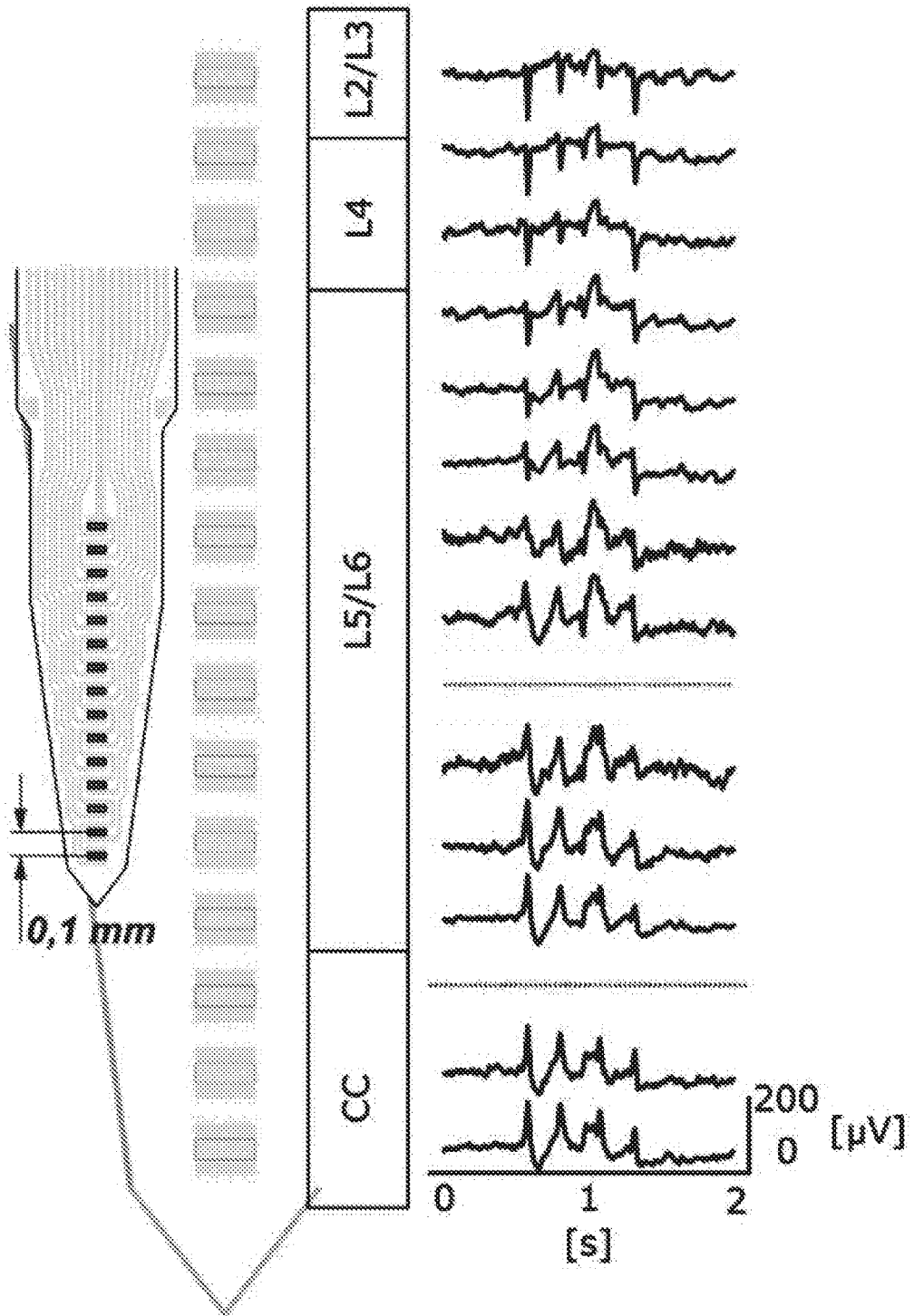


FIG. 6a

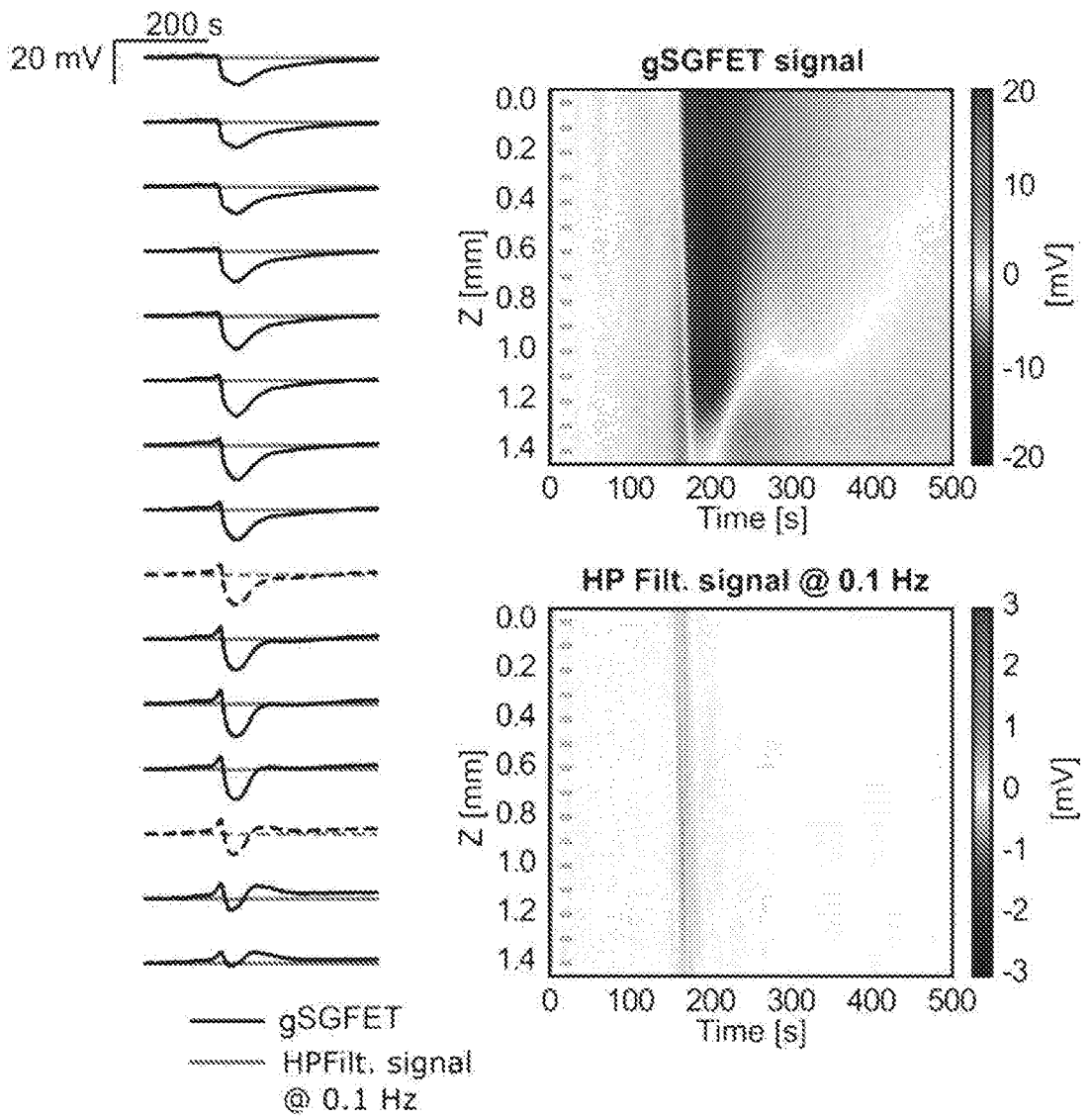


FIG. 6b

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ES2019/070728

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

H01L29/772 (2006.01)

A61B5/00 (2006.01)

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)

H01L, A61B

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, XPAIP, XPI3E, INSPEC.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CHENG JI et al.. Flexible Solution-Gated Graphene Field Effect Transistor for Electrophysiological Recording. JOURNAL OF MICROELECTROMECHANICAL SYSTEMS, 20141201 IEEE SERVICE CENTER, US. 01/12/2014, Vol. 23, N° 6, Pages 1311 - 1317, XP011565564 ISSN 1057-7157, <DOI:10.1109/JMEMS.2014.2312714>	1-7
A	LUCAS H HESS et al.. Graphene Transistors for Bioelectronics. PROCEEDINGS OF THE IEEE, 20130701 IEEE. NEW YORK, US. 01/07/2013, Vol. 101, N° 7, Pages 1780 - 1792, XP011515028 ISSN 0018-9219, <DOI:10.1109/JPROC.2013.2261031>	1-7

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"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)

"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"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

"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

"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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
09/01/2020

Date of mailing of the international search report
(10/01/2020)

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer
J. Botella Maldonado

Telephone No. 91 3495382

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº
PCT/ES2019/070728

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

H01L29/772 (2006.01)

A61B5/00 (2006.01)

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)

H01L, A61B

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, XPAIP, XPI3E, INSPEC.

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	CHENG JI et al.. Flexible Solution-Gated Graphene Field Effect Transistor for Electrophysiological Recording. JOURNAL OF MICROELECTROMECHANICAL SYSTEMS, 20141201 IEEE SERVICE CENTER, US. 01/12/2014, Vol. 23, Nº 6, Páginas 1311 - 1317, XP011565564 ISSN 1057-7157, <DOI:10.1109/JMEMS.2014.2312714>	1-7
A	LUCAS H HESS et al.. Graphene Transistors for Bioelectronics. PROCEEDINGS OF THE IEEE, 20130701 IEEE. NEW YORK, US. 01/07/2013, Vol. 101, Nº 7, Páginas 1780 - 1792, XP011515028 ISSN 0018-9219, <DOI:10.1109/JPROC.2013.2261031>	1-7

En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos

Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

<p>* Categorías especiales de documentos citados:</p> <p>"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.</p> <p>"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.</p> <p>"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).</p> <p>"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.</p> <p>"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.</p>	<p>"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.</p> <p>"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.</p> <p>"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.</p> <p>"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.</p>
--	--

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.
09/01/2020

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.
10 de enero de 2020 (10/01/2020)

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
J. Botella Maldonado
Nº de teléfono 91 3495382