

ALVARO CASTELLANOS M. & CIA.
ABOGADOS
Carrera 8 No. 83 - 09
A.A. 6348
Bogotá, D.C., COLOMBIA

SUPERINTENDENCIA Y COMANDO
 Radicación : 8310/221 MURRAY
 Fecha (HH): 2005-12-13 14:42:17
 Folios: 3/
 Remite : III PCI-PRIMEI 3/9 FASE NULI 3/9 COMPLETA
 Desempenho: 13 - 2005 01/11/2005 14:42:17

Señor

Jefe de la División de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio

Ministerio de Comercio, Desarrollo, Industria y Turismo

E. S. D.

Ref.: Expediente No. 03.107.321

Solicitud de Patente de Invención para: "CIRCUITO PARA IMPONER LOS VOLTAJES EN LOS ELECTRODOS DE LAS CUBETAS DEL SISTEMA CHEF DE ELECTROFORESIS DE CAMPOS PULSANTES".

Solicitante: CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS (CNIC)

MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pie de mi firma, atentamente me permito presentar copia del Examen Preliminar Internacional efectuado por la IPEA junto con su traducción simple; se hace notar a su Despacho que la traducción de las reivindicaciones enmendadas en el examen preliminar internacional se presentaron con la radicación de la solicitud.

Adicionalmente, presento copia de la publicación internacional de la solicitud (WO02/101374).

En consecuencia, atentamente solicito a Ud. se anexasen dichos documentos al expediente correspondiente a esta solicitud de Patente de Invención.

Del Señor Jefe,

Margarita Castellanos Abondano
C.C. No. 39.779.654 de Usaquén
T.P.A. No.70819 del C. Sup. de la Judicatura.
Carrera 9 No. 93 - 09 - Bogotá
Teléfonos: 610 74 80 y 610 74 60

Bogotá, :
xgt/4900FNPC

15 DIC. 2003

PATENT COOPERATION TREATY

66
67

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

To:

HERRERA CABRERA, VIOLETA MARIA
AVE. 25 NO. 15202 ESQ. A 158, CUBAN
ACAN, PLAYA
CU-C. HABANA. CUBA, C.P:12100
CUBA

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF THE INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT (PCT Rule 71.1)

Date of mailing
(day/month/year) 16.07.2003

Applicant's or agent's file reference
-/-

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/CU02/00004

International filing date (day/month/year)
07/06/2002

Priority date (day/month/year)
08/08/2001

Applicant
CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES... et al.

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the International preliminary examination report and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.
4. REMINDER

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary examination report. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

For the purpose of deciding whether the claimed invention is patentable or not, the elected Offices may apply criteria additional to or different from the criteria on which the international preliminary examination report is based (see Articles 27(5), 33(5)). Additional criteria may include e.g. exemptions from patentability and the requirements of enabling disclosure and of clarity and support of claims.

Name and mailing address of the IPEA/

 European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523653 gpmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Authorized officer

Conner, M

Tel. +49 89 2399-2241

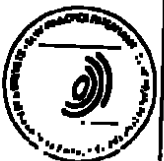


PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

67
68

Applicant's or agent's file reference -/-		FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/PEA/416)	
International application No. PCT/CU02/00004	International filing date (day/month/year) 07/06/2002	Priority date (day/month/year) 08/06/2001	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC G01N27/447			
Applicant CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES... et al.			
1. This International preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36. 2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet. ☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of 3 sheets.			
3. This report contains indications relating to the following items: - I ☒ Basis of the report - II ☐ Priority - III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability - IV ☐ Lack of unity of invention - V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement - VI ☐ Certain documents cited - VII ☐ Certain defects in the International application - VIII ☐ Certain observations on the international application			
Date of submission of the demand 16/12/2002		Date of completion of this report 18.07.2003	
Name and mailing address of the International preliminary examining authority:  European Patent Office D-80288 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465		Authorized officer Müller, T Telephone No. +49 89 2399 2265 	

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/CU02/00004

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17)*):

Description, pages:
1-21 as originally filed

Claims, No.:

1-15 as received on 11/06/2003 with letter of 05/06/2003

Drawings, sheets:

1/8-8/8 as originally filed

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language: , which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of the international search (under Rule 23.1(b)).
☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
☐ the language of a translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
☐ filed together with the international application in computer readable form.
☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages:
☐ the claims, Nos.:

68.70

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/CU02/00004

- ☐ the drawings, sheets:
5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2(c)):
(Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.)

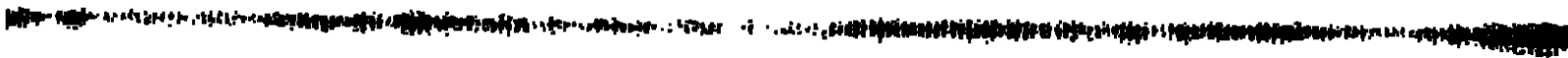
6. Additional observations, if necessary:

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, Inventive step or Industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes:	Claims	1-15
	No:	Claims	
Inventive step (IS)	Yes:	Claims	1-15
	No:	Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes:	Claims	1-15
	No:	Claims	

2. Citations and explanations
see separate sheet



10
71

Re Item V

Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Reference is made to the following documents:

D1: EP0356187

D2: EP0342349

2. Technical field:

The application is related to an electrical circuit for the generation of contour clamped homogeneous electric field (CHEF) in pulsed field gel electrophoresis (PFGE).

Problem:

Prior art systems suffer from either uncontrollable voltage changes, possibility of shortcuts, high power consumption or complicated and expensive electronic circuits.

Solution:

Electrophoretic device comprising an electrical circuit according to claim 1, wherein two identical independent circuits made of resistors and diodes are connected to the same array of electrodes.

Prior art:

D1 discloses an electrophoresis apparatus comprising a closed network of resistors wherein a transistorized buffer circuit is employed for each electrode. D2 discloses a circuit with operational amplifiers and MOSFETs.

Novelty (Article 33(2) PCT):

D1 and D2 are silent on the particular arrangement of clamping circuits according to claim 1. As a consequence the subject-matter of claim 1 fulfils the requirements of novelty.

Inventive step (Article 33(3) PCT):

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

International application No. PCT/CU02/00004

A combination of prior art documents according to the search report would not lead to the solution according to claim 1. Therefore the subject-matter of claim 1 fulfills the requirements of inventive step.

Industrial applicability is not in question.

Claims 2-15 are dependent claims and meet also the requirements of the PCT.

CLAIMS

1. Circuit to clamp the voltages in the electrodes of the CHEF system chambers of Pulsed Field Gel Electrophoresis in two identical strength but different orientation homogeneous electric fields, which requires a power supply, another circuit for the electric field switching or alternator with two positive and two negative outputs and an electrophoresis chamber filled with buffer solution, chamber which possesses an electrode array placed on the 'm' sides of a regular closed contour at 'k' electrodes per side, where the L_1 side is arbitrarily selected and it is made to coincide with the 'X' axis of a Cartesian plane, the side $L_{(m/2+1)}$ is parallel to the L_1 side and the others sides, named 'C' and 'D' sides, are located to the left and to the right of the sides L_1 and $L_{(m/2+1)}$ respectively being the $(E_{IC}-E_{ID})$ electrodes equally spaced at each side of the polygon thus existing 'n' $(E_{IC}-E_{ID})$ electrode pairs P_i formed by electrodes located at the same distance from the L_1 side, where 'n' is equal to $k \cdot (m-2)/2$ and 'i' is a natural number between 1 and 'n', circuit comprising that
- it is formed by two identical clamping circuits and each circuit independently set one of the two possible electric field orientations
 - means are provided to connect the electrodes placed on the L_1 and the $L_{(m/2+1)}$ sides to the negative and positive outputs of the alternator, respectively in each electric field orientation
 - means are provided to generate voltage references inside each clamping circuit to polarize the $(E_{IC}-E_{ID})$ electrodes of each P_i electrode pair
 - means are provided to permanently connect the two $(E_{IC}-E_{ID})$ electrodes of each P_i electrode pair to the same node of the voltage reference and to polarize these two $(E_{IC}-E_{ID})$ electrodes at the same potential in one electric field orientation but to electrically isolate said two $(E_{IC}-E_{ID})$ electrodes in the other field orientation
 - means are provided to make stable the potentials of the $(E_{IC}-E_{ID})$ electrodes of each P_i electrode pair against the buffer solution conductivity changes but each one of these means drive two electrodes and they have one single transistor
 - means are provided to compensate errors in the voltage pattern
 - means are provided in order to permanently connect the two independent circuits to the same array of electrodes.

2. Circuit as claimed in claim 1 comprising that each clamping circuit is connected to the alternator in a way that only one of the clamping circuits receives electric energy at the same time.
3. Circuit as claimed in claim 1 comprising that both circuits are connected to the same network of electrodes located on the sides of a regular closed contour, but the side selected as L_1 side for the first clamping circuit connection is different from the L_1 side selected for the second clamping circuit connection.
4. Circuit as claimed in claim 1 comprising that said means to polarize the electrodes placed on the L_1 and the $L_{(m/2+1)}$ sides are diodes.
5. Circuit as claimed in claim 1 and 4 comprising that each electrode located on the L_1 side is connected to the anode of a diode, the cathodes of these diodes are joined together and connected to the anode of a second diode and the cathode of this second diode is connected to one of the alternator negative outputs.
6. Circuit as claimed in claim 1 and 4 comprising that each electrode located on the $L_{m/2+1}$ side is connected to the cathode of a diode, the anodes of these diodes are joined together and connected to the cathode of a second diode and the anode of this second diode is connected to one of the alternator positive outputs.
7. Circuit as claimed in claim 1 comprising that those means to generate voltage references are a voltage divider formed by 'n+1' resistors R_i and a variable quantity of diodes connected to the positive and negative outputs of the alternator, where 'n' is equal to $k \cdot (m-2)/2$.
8. Circuit as claimed in claim 1 comprising that said transistor are in emitter follower configuration, its base is connected to one of the nodes of the voltage reference, its emitter to the respective P_i electrode pair throughout a pair of diodes, transistor that is a PNP type one with its collector connected to one of the alternator negative outputs when 'i' is a natural number between 1 and $n/2$ and is a NPN type one with its collector connected to one of the alternator positive outputs when 'i' is a natural number between $[(n/2)+1]$ and n.
9. Circuit as claimed in claim 1 comprising that said means to permanently connect the two $(E_{ic}-E_{id})$ electrodes of each P_i electrode pair to the same node of the voltage reference throughout a voltage repeater are pairs of diodes.
10. Circuit as claimed in claim 1 and 9 comprising that the cathodes of each pair of diodes are connected to the output of the voltage repeater and whose respective anodes are

connected to the two electrodes of the P_i electrode pair, when 'i' is a natural number between 1 and $n/2$.

11. Circuit as claimed in claim 1 and 9 comprising that the anodes of each pair of diodes are connected to output of the voltage repeater and whose respective cathodes are connected to the two electrodes of the P_i electrode pair, when 'i' is a natural number between $[(n/2)+1]$ and n.
12. Circuit as claimed in claim 1 comprising that said means to compensate errors in the voltage pattern are the diodes placed in series with the resistors of the voltage reference and up to 10 diodes can be used for this purpose.
13. Circuit as claimed in claim 1 comprising that said means to compensate errors in the voltage pattern are the second diode connected between the cathode of the diodes connected to the electrodes of the L_1 side and to one of the alternator negative outputs and said means are also the second diode connected between the anode of the diodes connected to the electrodes of the $L_{m/2+1}$ side and to one of the alternator positive outputs.
14. Circuit as claimed in claim 1 comprising that said means to permanently connect the two independent circuits to the same array of electrodes are the diodes connected to the electrodes.
15. Circuit as claimed in claim 1 which requires an electrophoresis chamber which possesses an electrode array placed on the 'm' sides of a regular closed contour at 'k' electrodes per side comprising that 'm' is an even natural number between 4 and 50 and 'k' is a natural number between 1 and 10.

70

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES

PCT

INFORME DEL EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

(Artículo 36 y Regla 70 del PCT)

Archivo de referencia del solicitante o del agente	PARA ACCION POSTERIOR	Ver Notificación de Transmisión del Informe del Examen Preliminar Internacional (Formato PCT/1PEA/416)
Solicitud internacional No. PCT/CU02/00004	Fecha de presentación internacional (día/mes/año) 7 de Junio de 2002 (07/06/2002)	Fecha de prioridad (día/mes/año) 8 de Junio de 2001 (08/06/2001)
Clasificación Internacional de Patente (CIP) o Clasificación Nacional y CIP G01N27/447		
Solicitante: CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES. et al.		
1 Este informe de examen preliminar internacional ha sido preparado por esta Autoridad Examinadora Preliminar Internacional y se transmite al solicitante de acuerdo con el Artículo 36. 2 Este INFORME consiste en un total de 8 hojas, incluyendo esta carátula. ☒ Este informe también se acompaña de los ANEXOS, esto es, hojas de descripción, reivindicaciones y/o dibujos que han sido reformados y son la base de este informe y/o hojas que contienen rectificaciones hechas ante esta Autoridad (ver Regla 70.16 y Sección 807 de las Instrucciones Administrativas según el PCT Estos anexos consisten en un total de 3 hojas.		
3 Este informe contiene indicaciones relacionadas con los siguientes ítems: I ☒ Base del informe II ☐ Prioridad III ☐ No establecimiento de opinión con respecto a la novedad, altura inventiva y aplicación industrial IV ☐ Carencia de unidad de la invención V ☒ Declaración razonada según artículo 35(2) con relación a la novedad, altura inventiva o aplicación industrial; citas y explicaciones que apoyan tal declaración VI ☐ Ciertos documentos citados VII ☐ Ciertos defectos en la solicitud internacional VIII ☐ Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional		

Fecha de presentación de la demanda 16 de Diciembre de 2002 (16/12/2002)	Fecha de completamiento de este informe 16 de Julio de 2003 (16/07/2003)
Nombre y dirección de correo del IPEA/JP European Patent Office D-80298 Munich Tel.: +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax.: +49 89 2399 - 4465	Funcionario autorizado Muller, T. Teléfono No. 49 89 2399 7332

77

INFORME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/CU02/00004

I. Base del Informe

- 1 Con relación a los elementos de la solicitud Internacional (las páginas reemplazadas que han sido presentadas a la oficina receptora en respuesta a la invitación con respecto al Art. 14 están referidas en este informe "originalmente presentadas" y no se anexan a este informe ya que estas no contienen modificaciones (Reglas 70.16 y 70.17):

Descripción, páginas:

1 - 21 como se presentaron originalmente

Reivindicaciones Nos.:

1 - 15 como se recibieron en 11/8/03 con carta de 5/8/03

Dibujos, páginas:

1/8 - 8/8 como se presentaron originalmente

- 2 Con relación al idioma, todos los elementos antes marcados se pusieron a disposición y se suministraron a esta autoridad en el idioma en el que se presentó la solicitud Internacional, a menos que se indique de otra forma en este punto.

Estos elementos se pusieron a disposición o se suministraron a esta autoridad en el siguiente idioma Inglés, el cual es:

- ☐ el idioma de una traducción suministrada para fines de investigación internacional (según la Regla 23.1(b)).
☐ el idioma de publicación de la solicitud internacional (bajo la Regla 48.3(b)).
☐ el idioma de la traducción suministrada para fines de examen preliminar internacional (bajo la Regla 55.2 y/o 55.3)

- 3 Con relación a cualquier nucleótido y/o secuencia amino ácida descubierta en la solicitud internacional, el examen preliminar internacional se llevó a cabo con base en la lista de secuencia:

- ☐ contenida en la solicitud Internacional en forma escrita
☐ presentado junto con la solicitud Internacional en forma leíble en computador
☐ suministrado con posterioridad a esta autoridad en forma escrita
☐ suministrado luego a esta autoridad en forma leíble en computador
☐ la declaración que el listado de secuencia escrito suministrado posteriormente no va más allá del descubrimiento en la solicitud internacional que se presentó ha sido suministrada
☐ la declaración que la información grabada en forma leíble en computador es idéntica a la lista de secuencia escrita ha sido suministrada

- 4 Las reformas han dado como resultado la cancelación de:

- ☐ la descripción, páginas
☐ las reivindicaciones, Nos.
☐ los dibujos, hojas/fig.

- 5 Este informe ha sido establecido como si (parte de) las reformas no han sido hechas, ya que se consideran que han ido más allá del descubrimiento que fue presentado, como se indica en la casilla suplementaria (Regla 70.2 (c)).

(Cualquier reemplazo de hoja que contenga tales correcciones debe ser referido al ítem 1 y debe ser anexado a este informe)

3A
28

6 Observaciones adicionales, si es necesario:
Ver hoja separada

V. Declaración razonada bajo el artículo 35(2) con relación a la novedad, altura inventiva o aplicación Industrial:
citas y explicaciones que apoyan tal declaración.

1 Declaración

Novedad (N)	Reivindicaciones	1-15	Si
	Reivindicaciones		No
Altura inventiva (IS)	Reivindicaciones	1-15	Si
	Reivindicaciones		No
Aplicción industrial (IA)	Reivindicaciones	1-15	Si
	Reivindicaciones		No

2 Citas y explicaciones
Ver hoja separada

78
79

Re Item V

Declaración razonada conforme al artículo 35(2) con respecto a la novedad, nivel inventivo o aplicación industrial; citaciones y explicaciones que sustentan esta declaración

1. Se hace referencia a los siguientes documentos:

D1: EP0356187

D2: EP0342349

2. Campo técnico

La solicitud se relaciona con un circuito eléctrico para la generación de campos eléctricos homogéneos fijados en el contorno (CHEF) en la electroforesis de gel de campo pulsado.(PFGE).

Problema:

Los sistemas del arte anterior presentan tanto cambios de voltaje incontrolable , posibilidad de cortos, alto consumo de energía como circuitos electrónicos costosos y complicados.

Solución:

El dispositivo electroforético comprende un circuito eléctrico de acuerdo a la reivindicación 1, en donde dos circuitos idénticos independientes hechos de resistores y diodos se conectan al mismo conjunto de electrodos.

Técnica anterior:

D1 revela un aparato de electroforesis que comprende una red cerrada de resistores donde el circuito amortiguador transistorizado se emplea para cada electrodo. D2 revela un circuito con amplificadores de operación y MOSFETs.

Novedad (Artículo 33 (2) PCT):

D1 y D2 no hacen relación en el arreglo particular de circuitos de fijación de acuerdo a la reivindicación 1. En consecuencia la materia contenida en la reivindicación 1 cumple los requisitos de novedad.

Nivel Inventivo (Artículo 33(3) PCT):

De la combinación de la técnica anterior de acuerdo al informe de búsqueda no se hubiera obtenido la solución de acuerdo a la reivindicación 1. Por lo tanto, la materia contenida en la reivindicación 1 cumple los requerimientos del nivel inventivo.

No se tiene duda en cuanto a la aplicación industrial.

Las reivindicaciones 2 a 15 son reivindicaciones dependientes y cumplen también con los requerimientos del PCT.

REIVINDICACIONES

1. Circuito para imponer los voltajes en los electrodos de las cámaras del sistema CHEF de Electroforesis de Campos Pulsantes y generar dos campos eléctricos homogéneos de fuerza idéntica pero orientación diferente, el cual requiere de una fuente de poder, de otro circuito para conmutar los campos eléctricos o alternador con dos bornes positivo y dos bornes negativos y una cámara de electroforesis que contiene solución tampón, cámara que posee un arreglo de electrodos colocados sobre los 'm' lados de un contorno regular cerrado a razón de 'k' electrodos por cada lado, donde el lado L_1 se selecciona arbitrariamente y se hace coincidir con el eje 'X' de un plano Cartesiano, el lado $L_{(m/2+1)}$ es paralelo al lado L_1 y los otros lados, nombrados lados 'C' y lados 'D' están localizados a la izquierda y a la derecha de los lados L_1 y $L_{(m/2+1)}$ respectivamente estando los electrodos ($E_{ic}-E_{id}$) igualmente separados a cada lado del polígono, existiendo así 'n' pares P_i de electrodos ($E_{ic}-E_{id}$) formados por los electrodos localizados a la misma distancia del lado L_1 , donde 'n' es igual a $k \cdot (m-2)/2$ e 'i' es un número natural entre 1 y 'n', circuito caracterizado porque,

- está formado por dos circuitos de imposición idénticos y cada circuito establece independientemente una de las dos posibles orientaciones del campo eléctrico

81.

- proporciona medios para conectar los electrodos colocados sobre los lados L_1 y $L_{(m/2+1)}$ a los bornes negativos y positivos del alternador, respectivamente en cada orientación del campo eléctrico

- 5
- proporciona medios para generar referencias de voltaje dentro de cada circuito de imposición para polarizar los electrodos ($E_{IC}-E_{ID}$) de cada par de electrodos P_i

- 10
- proporciona medios para conectar permanentemente los dos electrodos ($E_{IC}-E_{ID}$) de cada par de electrodo P_i al mismo nodo de la referencia de voltajes y para polarizar estos dos electrodos ($E_{IC}-E_{ID}$) al mismo potencial en una orientación del campo eléctrico pero para aislar eléctricamente esos dos electrodos ($E_{IC}-E_{ID}$) en la otra orientación del campo

- 15
- proporciona medios para estabilizar los potenciales de los electrodos ($E_{IC}-E_{ID}$) de cada par de electrodo de P_i contra los cambios de conductividad de solución tampón pero cada uno de estos medios controla dos electrodos y poseen un solo transistor

- 20
- proporciona medios para compensar errores en el patrón de voltaje

- proporciona medios para conectar permanentemente los dos circuitos independientes al mismo arreglo de electrodos.

25

2. Circuito de acuerdo con la reivindicación No.1 caracterizado porque cada circuito de imposición se conecta al alternador de modo que solo uno de los circuitos de imposición recibe energía eléctrica al mismo tiempo.

3. Circuito de acuerdo con la reivindicación No.1 caracterizado porque ambos circuitos se conectan al mismo arreglo de electrodos colocados sobre los lados de un contorno regular cerrado, pero el lado seleccionado como lado L_1 para la conexión del primer circuito de imposición es diferente del lado L_1 seleccionado para la conexión del segundo circuito de imposición.

4. Circuito de acuerdo con la reivindicación No.1 caracterizado porque dichos medios para polarizar los electrodos colocados sobre los lados L_1 y $L_{(m/2+1)}$ son diodos.

5. Circuito de acuerdo con las reivindicaciones No.1 y No.4 caracterizado porque cada electrodo colocado en el lado L_1 está conectado al ánodo de un diodo, los cátodos de estos diodos están unidos y se conectan al ánodo de un segundo diodo y el cátodo de este segundo diodo se conecta a uno de los bornes negativos del alternador.

6. Circuito de acuerdo con las reivindicaciones No.1 y No.4 caracterizado porque cada electrodo colocado sobre el lado $L_{m/2+1}$ está conectado al cátodo de un diodo, los ánodos de estos diodos se unen y se conectan al

cátodo de un segundo diodo y el ánodo de este segundo diodo se conecta a uno los bornes positivos del alternador.

7. Circuito de acuerdo con la reivindicación No.1 caracterizado porque dichos medios para generar referencias de voltaje son un divisor de voltaje, formado por ' $n+1$ ' resistencias R_i y una cantidad variable de diodos, divisor conectado a los bornes positivo y negativo del alternador, donde ' n ' es igual a $k \cdot (m-2)/2$.

8. Circuito de acuerdo con la reivindicación No.1 caracterizado porque el transistor está en configuración de seguidor de emisor, su base está conectada a uno de los nodos de la referencia de voltaje, su emisor al par de electrodos P_i respectivo a través de un par de diodos, transistor que es de tipo PNP con su colector conectado a uno de los bornes negativos del alternador cuando ' i ' es un número natural entre 1 y $n/2$ y es de tipo NPN con su colector conectado a uno de los bornes positivos del alternador cuando ' i ' es un número natural entre $[(n/2)+1]$ y n .

9. Circuito de acuerdo con la reivindicación No.1 caracterizado porque dichos medios para conectar permanentemente los dos electrodos (E_n , E_m) de cada par de electrodos P_i al mismo nodo de la referencia de voltaje a través de un repetidor de voltaje son parejas de diodos.

10. Circuito de acuerdo con las reivindicaciones No.1 y No. 9 caracterizado porque los cátodos de cada pareja de diodos están conectados a la

23/44

salida del repetidor de voltaje y sus respectivos ánodos están conectados a los dos electrodos del par de electrodos P_i , cuando 'i' es un número natural entre 1 y $n/2$.

5 11. Circuito de acuerdo con las reivindicaciones No.1 y No. 9 caracterizado porque los ánodos de cada pareja de diodos están conectados a la salida del repetidor de voltaje y sus respectivos cátodos están conectados a los dos electrodos del par de electrodos P_i , cuando 'i' es un número natural entre $[(n/2)+1]$ y n .

10 12. Circuito de acuerdo con la reivindicación No.1 caracterizado porque dichos medios para compensar errores en el patrón de voltaje son los diodos colocados en serie con las resistencias de la referencia de voltaje y se pueden usar hasta 10 diodos para este propósito.

15 13. Circuito de acuerdo con la reivindicación No.1 caracterizado porque dichos medios para compensar errores en el patrón de voltaje son el segundo diodo conectado entre el cátodo de los diodos conectados a los electrodos del lado L_1 y uno de los bornes negativos del alternador y dichos medios son también el segundo diodo conectado entre el ánodo de los diodos conectado a los electrodos del lado $L_{m/2+1}$ y uno de los bornes positivos del alternador.

20 14. Circuito de acuerdo con la reivindicación No.1 caracterizado porque dichos medios para conectar permanentemente los dos circuitos:

25

845

independientes al mismo arreglo de electrodos son los diodos conectados a los electrodos.

5 15. Circuito de acuerdo con la reivindicación No.1 el cual requiere de una cámara de electroforesis que posee un arreglo de electrodos colocados sobre los 'm' lados de un contorno regular cerrado a razón de 'k' electrodos por lado y caracterizado porque 'm' es un número natural par entre 4 y 50 y 'k' es un número natural entre 1 y 10.

86

(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
19 de Diciembre de 2002 (19.12.2002)

PCT

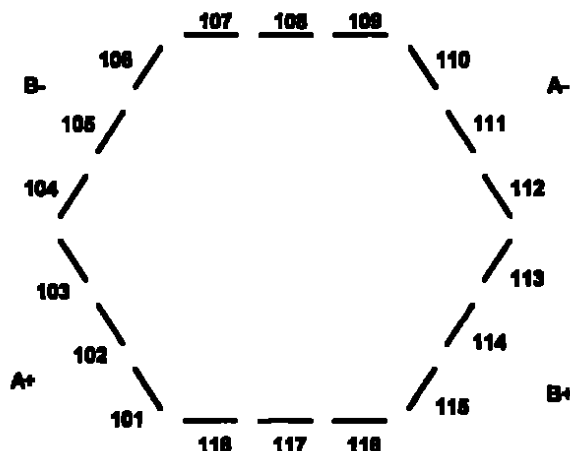
(10) Número de Publicación Internacional
WO 02/101374 A1

- (51) Clasificación Internacional de Patentes:
G01N 27/447, B01D 57/02
- (21) Número de la solicitud internacional: PCT/CU02/00004
- (22) Fecha de presentación internacional:
7 de Junio de 2002 (07.06.2002)
- (25) Idioma de presentación: español
- (26) Idioma de publicación: español
- (30) Datos relativos a la prioridad:
2001-0133 8 de Junio de 2001 (08.06.2001) CU
- (71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo US):
CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CNIC) [CU/CU]; Ave. 25 No. 15202 Esq. a 158., Cobanacán, Playa, 12 100 La Habana, CUBA (CU).
- (72) Inventores: o
(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): HER-
RERA ISIDRÓN, José, Alfredo [CU/CU]; CENTRO
NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
(CNIC), Calle. 174 Edif. BHK-2 Apto. 14, Rpto. Flores,
Playa, 12 100 Habana. (CU). RIVERON ROJAS, Ana,
María [CU/CU]; CENTRO NACIONAL DE INVES-
TIGACIONES CIENTÍFICAS (CNIC), Calle. 21A No.
20614 entre 206a y 214, Atabey, Playa, 12 100 Habana
(CU). CANINO RAMOS, Carlos, Alberto [CU/CU];
CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CI-
ENTÍFICAS (CNIC), Calle. 192 No. 19915 entre 199
y 201, María del Carmen, Boyeros, 19 220 Habana
(CU). LOPEZ CANOVAS, Lila [CU/CU]; CENTRO
NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
(CNIC), Calle. 21A No. 20614 entre 206a y 214, Atabey,
Playa, 12 100 Habana (CU). NOA BLANCO, María,

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: CIRCUIT FOR IMPOSING VOLTAGES ON THE ELECTRODES OF TRAYS USED IN THE CHEF PULSED FIELD ELECTROPHORESIS SYSTEM

(54) Título: CIRCUITO PARA IMPONIR LOS VOLTAJES EN LOS ELECTRODOS DE LAS CUBETAS DEL SISTEMA CHEF DE ELECTROFORRESIS DE CAMPOS PULSANTES.



(57) Abstract: The invention relates to a circuit for imposing voltages on the electrodes of trays used in the CHEF pulsed field electrophoresis system. Said circuit is formed by two identical application circuits that are connected to a power source by means of an alternator in such a way that only one of the two circuits receives electrical energy each time. Each application circuit consists of several resistors and diodes, which are series connected to form a voltage divider. Voltage repeaters are connected to the nodes formed at the union of two resistors. Each repeater is connected to a pair of electrodes that are to be polarized to the same potential. Diodes are introduced to correct minor errors in the voltage pattern applied to the electrodes. The circuit can maintain the potential in each electrode when conductivity variations occur during electrophoresis. Each application circuit generates a homogenous electrical field having the same value and different direction in a tray used in the CHEF pulsed field electrophoresis system. Trays with different number and arrangement of and separation between electrodes can be polarized with said circuit.

[Continúa en la página siguiente]

WO 02/101374 A1



Dolores [CU/CU]; CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CNIC), Calle. 10 No. 125 entre 1ra y 5ta, Miramar, Playa, 12 100 Habana (CU).

(74) Mandatario: HERRERA CARRERA, Violeta, María; CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CNIC), Calle. 172 Edif. C-2 Apto. 5 entre 1ra y 5ta, Rpto. Flores, Playa, 12 100 Habana (CU).

(81) Estados designados (nacional): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KR, KG, KP, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (regional): patente ARIPO (GH, GM, KI, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente europea (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), patente europea (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IL, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NI, SN, TD, TG).

Publicada:

- con informe de búsqueda internacional
- antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se reciben modificaciones

Para códigos de dos letras y otras abreviaturas, véase la sección "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" que aparece al principio de cada número regular de la Gaceta del PCT.

(57) Resumen: Circuito para imponer los voltajes en los electrodos de las cubetas del sistema chef de electroforesis DH CAMPOS PUI SANTOS RISSUMHN. Circuito para imponer los voltajes en los electrodos de las cubetas del sistema CHEF de electroforesis de campos pulsantes (HCP) que está formado por dos circuitos de imposición idénticos que se conectan a una fuente de poder a través de un alternador de forma que solo uno de los dos circuitos de imposición reciba energía eléctrica a la vez. Cada circuito de imposición está formado por varias resistencias y diodos conectados en serie para formar un divisor de voltajes. A los nodos formados en la unión de dos resistencias se conectan repetidores de voltajes. Cada repetidor se conecta a una pareja de electrodos que deben ser polarizados al mismo potencial. Se introducen diodos para corregir pequeños errores en el patrón de voltaje aplicado a los electrodos. El circuito es capaz de mantener el potencial de cada electrodo frente a las variaciones de conductividad que ocurren en la cubeta durante la electroforesis. De esta forma cada circuito de imposición genera un campo eléctrico homogéneo de igual valor y dirección diferente en una cubeta de BCP del sistema CHEF. Cubetas con diferente número, disposición y separación entre los electrodos pueden ser polarizadas con este circuito.

CIRCUITO PARA IMPONER LOS VOLTAJES EN LOS ELECTRODOS DE LAS CUBETAS DEL SISTEMA CHEF DE ELECTROFORESIS DE CAMPOS PULSANTES.

5 MEMORIA DESCRIPTIVA

ÍNDICE DE LA CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL DE PATENTES: G01N 27/26.

CAMPO O RAMA DE LA TÉCNICA CON LA QUE SE RELACIONA LA
10 **INVENCIÓN:** La presente invención se relaciona con equipos eléctricos utilizados en electroforesis, en específico con la generación de potenciales eléctricos fijados en el contorno para establecer campos homogéneos que alternan su dirección de aplicación.

15 **NIVEL CONOCIDO DE LA TÉCNICA. CARACTERÍSTICAS DE LAS SOLUCIONES TÉCNICAS ANÁLOGAS.**

La electroforesis

20 La electroforesis es una técnica que separa moléculas por migración diferencial de las mismas en un campo eléctrico. Las moléculas pueden ser depositadas en un gel y tamizadas en el mismo cuando se aplica el campo eléctrico que las obliga a migrar. Las moléculas cargadas negativamente migran hacia el ánodo y las cargadas positivamente lo hacen hacia el cátodo. De esta forma las moléculas se
25 van separando y formando bandas en el gel, de acuerdo a su talla. Para la generación del campo eléctrico se suelen disponer paralelamente dos electrodos que se conectan a una fuente de corriente directa.

Las moléculas de ADN se cargan negativamente cuando se preparan en solución
30 tampón a pH neutro o alcalino. Al aplicar el campo eléctrico, las moléculas de ADN se elongan y su relación carga-masa se vuelve independiente de su talla molecular. Lo anterior, unido al hecho que las moléculas de ADN migran a través de los poros del gel de manera similar al movimiento de una serpiente, o sea mediante un mecanismo de reptación, determina que las moléculas mayores de 20000 pares de

bases no puedan ser separadas en la electroforesis a campo eléctrico constante, aun cuando están sometidas a tamizaje molecular.

La electroforesis de campos pulsantes

5

La electroforesis de campos pulsantes (ECP) fue creada por Schwartz y Cantor en 1984 (Cell, 37, pp 67-75, 1984; Patente US 4,473,452 de Septiembre 25 de 1984) e incrementó el rango de separación de las moléculas de ADN que podían ser separadas en electroforesis. Los autores obtuvieron que las grandes moléculas
10 Intactas de ADN, mayores de 20000 pares de bases, se resolvían en los geles de agarosa en patrones de bandas mediante la aplicación de pulsos eléctricos de duraciones seleccionadas que alternaban periódicamente su dirección de aplicación en relación con el gel de separación. Los cambios de dirección de aplicación del campo eléctrico provocan reorientación de la migración de las moléculas de ADN,
15 mientras que la duración de dicha reorientación depende del tamaño o talla de cada molécula. Los patrones de bandas obtenidos se han denominado 'patrones electroforéticos', 'carlotipos moleculares', 'carlotipos electroforéticos', etc.

Así, cualquier sistema de electroforesis de campos pulsantes consta de:

20

1. La cámara de electroforesis con sus accesorios.
2. La electrónica apropiada para alternar los campos eléctricos con la intensidad y duraciones de pulsos deseadas.
3. El método de polarizar los electrodos.

25

Los campos eléctricos que fueron generados en los equipos iniciales de ECP, tales como los descritos por Schwartz y Cantor (Cell, 37, pp 67-75, 1984; Patente U.S. No. 4,473,452 de Septiembre 25 de 1984) y otros como los descritos por Carle y Olson (Carle G.F., Olson M.V. Nucleic. Acid Res., 12, pp 5647-5664, 1984) no brindaban valores homogéneos de intensidad del campo eléctrico a lo largo del gel,
30 por lo que, la trayectoria y la velocidad de migración de las moléculas de ADN en dichos geles dependía de la posición que ellas ocuparan en el mismo.

Generación de campos eléctricos homogéneos en la ECP

En teoría, un campo eléctrico homogéneo es generado por dos electrodos infinitos que se colocan paralelos y separados cierta distancia. Pero el diseño de tal cámara de electroforesis es impracticable. Para aproximarse a la obtención de un campo eléctrico de intensidad homogénea a lo largo del gel de separación, empleando electrodos finitos, Chu (Chu G., Vollrath D., Davis R.W. Science, 234, pp 1582-1585, 1986) propuso la siguiente variante:

- 10 1. Se selecciona un polígono regular (cuadrado, rectángulo o hexágono) como contorno cerrado sobre cuyos lados será colocado un arreglo de electrodos para generar en el interior del polígono un campo eléctrico de valores homogéneos de intensidad.
- 15 2. Se hace coincidir el eje X ($y = 0$) de un plano cartesiano imaginario con uno de los lados del polígono regular.
3. En esos electrodos colocados en $y=0$ se aplica el potencial de 0 volts.
4. En los electrodos del lado opuesto del polígono regular, que se encuentran a una distancia $y=A$ del eje 'X', se aplica un valor V_0 de potencial.
5. En los restantes electrodos, situados sobre los otros lados del polígono regular y a una distancia y_i del eje 'X' se aplica un potencial $V(y_i)$, donde $V(y_i) = V_0 \cdot y_i/A$.
- 20 6. Así, el potencial generado en el interior del polígono regular es igual al que sería generado por dos electrodos infinitos y paralelos separados entre sí una distancia A.
7. Si se permuta electrónicamente la polaridad entre los electrodos colocados en dos pares opuestos de lados, se formará un ángulo entre las líneas de fuerza de los campos eléctricos resultantes. Ese ángulo es denominado en ECP 'ángulo de reorientación'.
- 25 8. El ángulo de reorientación obtenido al permutar electrónicamente la polaridad entre los electrodos de dos pares de lados diferentes en el cuadrado será de 90° y en el hexágono de 60° o 120° .
- 30

La configuración de electrodos en un arreglo hexagonal ha sido la utilizada en los sistemas actuales de ECP. Ese sistema se denomina como campos eléctricos homogéneos fijados en el contorno o CHEF (Contour Clamped Homogeneous

Electric Field) y fue introducido por Chu en 1986 (Chu G. Science 234, pp 1582-1585, Diciembre 16, 1986).

Una de las deficiencias del sistema CHEF actual es que el contorno cerrado de electrodos esta limitado a los poligonos regulares descritos anteriormente.

Métodos para imponer los voltajes en los electrodos del sistema CHEF y obtener campos eléctricos de intensidad homogénea en el gel.

Se han propuesto fundamentalmente tres métodos que fueron ganando en complejidad y componentes electrónicas:

1. Un simple divisor de voltaje (Chu G., Vollrath D., Davis R.W. Science, 234, pp 1582-1585, 1986).
2. El divisor de voltaje asociado a juegos de transistores en configuración push-pull (Maule J., Green D. K. Anal Biochem 191, pp 390-395, 1990).
3. El uso de operacionales para controlar mejor los voltajes impuestos en cada electrodo del sistema CHEF (Clark S.M., Lal E., Birren B.W., Hood L. Science 241, pp 1203-1205, 1988).

El simple divisor de voltaje en los sistemas de ECP.

Uno de los métodos para imponer los valores de potencial en los electrodos del CHEF es emplear un anillo de resistores que se conectan en serie. Este anillo forma un divisor de voltaje entre los valores 'cero' y ' V_0 '. Nombraremos nodos al lugar de unión entre dos resistores consecutivos del divisor de voltaje y en cada nodo se une un electrodo del hexágono.

Los electrodos colocados en $y=0$ y $y=A$, o sea en dos lados opuestos del hexágono, se conectan respectivamente a los potenciales ' 0 ' y ' V_0 '. A cada lado, quedan otros dos grupos de electrodos, donde cada grupo está compuesto por los electrodos de dos lados consecutivos del hexágono. Cada uno de esos electrodos se conecta a un nodo del divisor de voltaje que define el potencial que debe aplicarse en dicho electrodo. El valor de potencial que se impone se calcula como se mencionó en el acápite anterior. Por eso, los dos electrodos que se encuentren en dos lados

diferentes del hexágono, pero a la misma distancia y_i de los electrodos más electronegativos ($y=0$) deben poseer el mismo valor de voltaje dado por $V(y_i) = V_0 - y_i/A$.

- 5 Para lograr el cambio de dirección de aplicación del campo eléctrico, lo cual es imprescindible en la ECP, se aplica la diferencia de potencial a otros dos grupos de electrodos diferentes. Esto se realiza con la ayuda de relés y diodos que conectan los electrodos que se deben polarizar con cero volt y V_0 a los bornes de la fuente a través del sistema de conmutación de los campos eléctricos.

10

Sin embargo, el uso de series de resistores para fijar los voltajes tiene un inconveniente. Cuando se pone en contacto el anillo de resistores con la solución tampón, esta última se comporta como un nuevo resistor conectado en paralelo con los resistores del anillo. Las corrientes que se inyectan desde los resistores hacia
15 los electrodos y viceversa, cambian el valor del potencial en cada electrodo lo que afecta la homogeneidad del campo eléctrico. El cambio de voltaje depende de la cantidad de corriente que se inyecta o se extrae de la solución tampón y esta a su vez depende de cambios en la concentración, temperatura, volumen y pH de la solución tampón, entre otros. Dichos cambios afectan aleatoriamente la
20 conductividad del tampón y por tanto la magnitud de la corriente eléctrica que se intercambia con el circuito resistivo puro (Maule J., Green D. K. Anal Biochem 191, pp 390-395, 1990). Estos cambios aleatorios del patrón de voltaje son incontrolables y por tanto, afectan de manera diferente los resultados y la reproducibilidad de los patrones electroforéticos que se obtienen en cada experimento.

25

Esos cambios pueden ser reducidos si la corriente que pasa por la serie de resistencias es mucho mayor a la que circula por la solución (Maule, J. and Green, D. K. Anal Biochem 191, pp 390-395 1990). Sin embargo, esa solución tiene la desventaja de que provoca un gasto innecesario de energía eléctrica y obliga a
30 utilizar componentes (especialmente los resistores) de mayor potencia que son más caros.

El divisor de voltaje asociado a juegos de transistores en configuración push-pull.

Para resolver los problemas planteados para el divisor resistivo de voltaje se propuso el uso de fuentes de corrientes construidas con elementos semiconductores (Maule J., Green D. K. Anal Biochem 191, pp 390-395, 1990). Esas fuentes de corriente separan cada electrodo del nodo correspondiente en la serie de resistores del divisor. Entre cada nodo y su electrodo correspondiente se coloca una pareja de transistores en la llamada configuración 'push-pull', los que inyectan y extraen corriente eléctrica de cada electrodo, con lo cual repiten en los electrodos el voltaje que brinda el nodo del divisor sin que sea afectado por los cambios de conductividad de la solución tampón. El sistema mencionado logra polarizar adecuadamente los electrodos en las dos direcciones de aplicación del campo eléctrico en la ECP. Sin embargo, posee algunas limitaciones:

1. Los pares de electrodos que deben estar polarizadas con igual valor de voltaje, $V(y) = V_0 \cdot y/A$, obtienen su potencial de nodos diferentes, por lo que, no siempre se logra la igualdad de voltajes en todas los pares de electrodos que se requieren.
2. Los electrodos que se encuentran más cerca de los electrodos más electropositivos reciben la corriente eléctrica del transistor tipo NPN del push-pull al que están conectados. Mientras que los electrodos que se encuentran más cerca de los electrodos más electronegativos drenan corriente eléctrica hacia el transistor tipo PNP del push-pull al que están conectados. El hecho de que están activos a la vez transistores de polaridades diferentes introduce errores en el patrón de voltajes.
3. Las resistencias que establecen el patrón de potenciales en una de las dos direcciones de aplicación del campo son las mismas que lo hacen en la otra dirección. Por eso, no es posible hacer un ajuste independiente del patrón de potenciales en cada campo. Cualquier variación que se quiera introducir en una de las dos direcciones afecta necesariamente a la otra dirección.
4. El circuito posee tantos pares de transistores en configuración push-pull como electrodos tiene la cubeta CHEF. Los pares de transistores en configuración push-pull se conectan en paralelo. Cuando ocurre rotura de alguno de los transistores es difícil determinar el par dañado.

5. En los pares de transistores configurados en push-pull siempre uno de los transistores está activo mientras el otro se encuentra inactivo. Esto significa que en todo momento la mitad de los transistores está inactiva. Sin embargo, esos transistores no pueden eliminarse del circuito, pues cuando el campo eléctrico se aplica en la otra dirección, algunos pares cambian el transistor activo. Por tanto, el anillo divisor de voltaje unido a pares de transistores en configuración push-pull es ineficiente, ya que el número total de transistores inactivos en cada campo es excesivo al igual que la cantidad total de transistores.
6. Todos los pares de transistores están conectados a la fuente de poder sin ningún elemento que limite la corriente. El fallo de uno solo de los transistores provoca cortocircuito entre los bornes positivo y negativo de la fuente de poder. Por lo que se puede concluir que el circuito no es seguro.

El uso de operacionales para controlar mejor los voltajes impuestos en cada electrodo del sistema CHEF.

Otros sistemas más complejos utilizan amplificadores operacionales para realizar un control individual del potencial que se impone en cada electrodo del arreglo hexagonal de la cámara (Patente US 5,084,167). Esos sistemas logran variar el ángulo entre las dos direcciones de aplicación del campo eléctrico pero a costa de aumentar la complejidad electrónica de los sistemas, tanto en su construcción como su operación. Adicionalmente, los elementos que realizan el control de los potenciales no pueden ser convenientemente aislados de los elementos de poder. Es necesario la conversión digital lo que implica nuevas complejidades y aumenta el costo del equipo.

Por otra parte, Riverón y cols. (Patente Cubana, No. de solicitud: 306/2000) demostraron que para la obtención de patrones de bandas rectos y reproducibles en ECP es necesario garantizar campos eléctricos de intensidad homogénea en la cámara de electroforesis. Ellos determinaron que la homogeneidad del campo eléctrico aplicado solo puede ser obtenida si, además de poseer un sistema de polarizar adecuadamente los electrodos en el contorno cerrado, se garantiza homogeneidad en la resistencia eléctrica del tampón y del gel. Si describimos la resistencia eléctrica como

$$R = (1 / \sigma) \cdot (d / A)$$

donde: (σ) es la conductividad del electrolito, (d) es la separación entre los
5 electrodos de polaridades opuestas y (A) es el área de sección transversal al paso
de la corriente.

Se deduce que para que la resistencia eléctrica sea homogénea en toda la cámara
es necesario que no exista turbulencia en la superficie del tampón ni deformaciones
10 o meniscos en el gel que alteren o modifiquen el área de la sección transversal al
paso de la corriente.

Por lo tanto, si los sistemas de ECP, aún los que poseen circuitos electrónicos muy
complejos para polarizar los electrodos, no tienen en cuenta la homogeneidad de la
15 resistencia eléctrica en el tampón, no pueden garantizar patrones de bandas rectos
y experimentos reproducibles. Esta situación se hace mas crítica con cámaras más
pequeñas.

ESENCIA DE LA INVENCION

20

Para explicar adecuadamente el circuito propuesto en esta invención es necesario
definir un sistema de referencia.

El sistema de referencia

25

Consideraremos un contorno cerrado de electrodos (de las cámaras de ECP del
sistema CHEF) al conjunto de varios electrodos que se colocan sobre los 'm' lados
de un polígono regular, donde 'm' es par. En nuestro sistema de referencia (Figura
1) se define el lado L_1 arbitrariamente y se coloca sobre el eje 'X' de un plano
30 cartesiano. El lado opuesto (denominado como $L_{m/2+1}$) queda a una distancia 'A' del
eje 'X'. De esta forma, los lados restantes del polígono regular quedan distribuidos
simétricamente a ambos lados de los lados L_1 y $L_{m/2+1}$. Los lados del polígono

regular que se encuentran a la izquierda de los lados L_1 y $L_{(m/2)+1}$ se les denominará como lados 'C' y los que se encuentran a la derecha como lados 'D'.

Sobre cada lado se colocan 'k' electrodos donde 'k' es un número natural entre 1 y 10. Así quedarán 'k' electrodos colocados sobre el lado L_1 o sea sobre el eje 'X' con ordenadas $y_0 = 0$. También quedarán 'k' electrodos situados sobre el lado $L_{(m/2)+1}$ a una distancia 'A' del eje 'X' con ordenadas $y_{n+1}=A$.

Todos los electrodos situados sobre los lados 'C' y 'D' se denominarán como E_{1C} , $E_{2C}, \dots, E_{nC}$ y E_{1D} , $E_{2D}, \dots, E_{nD}$, donde 'n' es igual a $k \cdot (m-2)/2$. La denominación de los electrodos se hace en el siguiente orden para los lados 'C' y 'D', partiendo del lado L_1 hasta llegar al lado $L_{(m/2)+1}$. Electrodos, E_{1C} , $E_{2C}, \dots, E_{nC}$, y electrodos E_{1D} , $E_{2D}, \dots, E_{nD}$. Los dos electrodos E_{nC} y E_{nD} se colocan a la misma distancia y_l del eje 'X', donde l es un número natural entre 1 y n. Cada uno de esos ($[E_{1C}-E_{1D}]$, $[E_{2C}-E_{2D}], \dots, [E_{nC}-E_{nD}]$) se denominará par de electrodos P_l .

El circuito de esta invención para lograr campos eléctricos homogéneos en el interior de un contorno cerrado de electrodos

20

Para explicar el circuito, primero se referirá como lograr un campo homogéneo empleando el sistema de referencia anteriormente descrito. Se parte de la base que todos los electrodos son energizados durante la electroforesis con un voltaje dado entre 0 y V_0 volts que se obtiene de una fuente de poder de la siguiente forma.

25

1. A los 'k' electrodos colocados sobre el lado L_1 se le aplican 0 volts.
2. A los 'k' electrodos colocados sobre el lado opuesto $L_{(m/2)+1}$ se le aplican V_0 volts.

30

Sin embargo, al aplicar una diferencia de potencial entre los electrodos colocados en los lados L_1 y $L_{(m/2)+1}$ se establece en el interior de la cámara de ECP un campo eléctrico cuya intensidad no es homogénea en todas las regiones de la cámara. Esto significa que en los pares de electrodos P_l aparece un voltaje dado que no es proporcional a la distancia y_l . Por lo que, en los electrodos restantes deben

imponerse valores de voltaje tales que homogeneicen el campo eléctrico en toda la cámara de electroforesis. Entonces a los electrodos de los pares P_i se le aplica un voltaje $V_i = V_0 \cdot y_i / A$.

- 5 Así, los electrodos del contorno cerrado quedan polarizados de forma que generan un campo eléctrico homogéneo en una dirección de aplicación determinada. Un razonamiento similar es aplicable para lograr un campo eléctrico homogéneo de igual magnitud, pero cuyas líneas de fuerza posean otra dirección. Solo es necesario definir como L_1 otro lado del polígono regular.

10

En esta invención se propone que los dos campos eléctricos de la ECP pueden ser energizados con dos circuitos de imposición idénticos. Estos circuitos de imposición se conectan entre los bornes positivos y negativos del circuito existente para alternar los campos eléctricos o alternador de forma que solo uno de los circuitos de

15 imposición reciba energía eléctrica a la vez.

15

Cada uno de esos circuitos impone en los electrodos los voltajes que generan un campo eléctrico de intensidad homogénea en una de las direcciones de aplicación en las cubetas del sistema CHEF. Las conexiones circuitales en una de las dos

20 direcciones donde se aplicará el campo eléctrico se realizan de la siguiente forma:

20

- I. Uno de los bornes negativos del alternador se conecta a través de diodos a todos los 'k' electrodos del lado L_1 (lado colocado sobre el eje 'X'), mientras que el borne positivo correspondiente a ese borne negativo del alternador se

25 conecta a través de diodos a los 'k' electrodos situados sobre el lado $L_{(m/2)+1}$, es decir a los electrodos del lado que se encuentra a la distancia A del eje 'X'.

- II. La conexión a través de diodos entre el borne negativo del alternador y los 'k' electrodos del lado L_1 se realiza de la siguiente forma:
 - a) cada electrodo del lado L_1 del polígono regular se conecta al ánodo de un

30 diodo,

 - b) los cátodos de esos diodos, uno por cada electrodo, se conectan entre sí y al ánodo de un segundo diodo, - c) el cátodo de ese segundo diodo se une al borne negativo del alternador.

30

- III. La conexión a través de diodos entre el borne positivo del alternador y los 'k' electrodos del lado $L_{(n/2)+1}$ se realiza de la siguiente forma:
- a) cada electrodo del lado $L_{(n/2)+1}$ del polígono regular se conecta al cátodo de un diodo,
 - b) los ánodos de esos diodos, uno por cada electrodo, se conectan entre sí y al cátodo de un segundo diodo,
 - c) el ánodo de ese segundo diodo se une al borne positivo del alternador.
- IV. A los bornes negativo y positivo del alternador se conectan además los extremos de un divisor de voltaje formado por $n+1$ resistores R_i y una cantidad variable de diodos. Así, se divide el voltaje total ($V_a - 0$) en valores que son proporcionales a la distancia y_i que separa cada par de electrodos P_i ($E_{iC} - E_{iD}$) del eje 'X'.
- V. Cada nodo N_i que se forma entre los resistores R_i y R_{i+1} del divisor de voltaje se conecta a la entrada de un repetidor de voltaje. La salida de cada repetidor de voltaje se conecta a una de las parejas de electrodos P_i . Los repetidores de voltaje tienen dos funciones, una es repetir en su salida (la pareja de electrodos P_i) el voltaje de su entrada que procede del nodo N_i . La otra función es mantener constante ese voltaje frente a los cambios de conductividad del tampón durante la ECP.

Los repetidores de voltaje son de dos tipos:

- 1- Cuando el repetidor de voltaje se conecta entre un nodo N_i del divisor y un par de electrodos P_i donde 'i' es un número natural entre $[(n/2)+1]$ y n , dicho repetidor de voltaje está formado por los siguientes elementos circuitales:
 - un transistor de polaridad NPN cuya base se conecta al nodo N_i del divisor de voltaje, su colector al borne positivo del alternador y su emisor a los ánodos de dos diodos, cuyos respectivos cátodos se conectan con los electrodos de la pareja de electrodos P_i , ya mencionada.
- 2- Cuando el repetidor de voltaje se conecta entre un nodo N_i del divisor y un par de electrodos P_i donde 'i' es número natural entre 1 y $n/2$, dicho repetidor de voltaje está formado por los siguientes elementos circuitales:

un transistor de polaridad PNP cuya base se conecta al nodo N_i del divisor de voltaje, su colector al borne negativo del alternador y su emisor a los cátodos de dos diodos, cuyos respectivos ánodos se conectan con los electrodos de la pareja de electrodos P_i ya mencionada.

5

El valor de cada resistor R_i se escoge de forma tal que el voltaje de cada par de electrodos P_i sea proporcional a la distancia que los separa de los electrodos situados sobre el lado L_1 del polígono regular.

- 10 El otro circuito es idéntico a éste, pero se conecta a los electrodos E_i de forma diferente. Para ello, se redefine como lado L_1 a cualquier otro lado del polígono regular según el ángulo que se desee establecer entre las líneas de fuerza de ambos campos eléctricos que se generarán y se rota el sistema de referencia el ángulo necesario para que el nuevo lado L_1 quede sobre el eje 'X'. A partir de L_1 se
- 15 redefinen los lados 'C' y 'D', los electrodos E_i y los pares de electrodos P_i

- Del razonamiento anterior se deduce que las parejas de electrodos P_i de cada uno de los circuitos son diferentes. Por eso, se requieren diodos y no se pueden conectar directamente a los emisores de los transistores de los repetidores de
- 20 voltaje. Los diodos permiten unir ambos electrodos de la pareja garantizando que tengan el mismo potencial cuando ese repetidor de voltaje esta activo, pues se aplicó el campo en esa dirección. Cuando el campo eléctrico se establece en la otra dirección los diodos que unen la antigua pareja P_i quedan conectados en serie pero con polaridades opuestas. Así se garantiza que las ramas del circuito entre las
- 25 antiguas parejas de electrodos, que en ese momento unen electrodos de diferente potencial, tengan al menos un diodo polarizado inversamente. La resistencia de éstos al paso de la corriente eléctrica es muy alta y los electrodos de esa rama quedan aislados eléctricamente.

- 30 La influencia de los cambios de conductividad de la solución tampón sobre el potencial de cada nodo N_i del divisor se reduce inyectando o extrayendo corriente del electrodo hasta que su voltaje sea igual al de su nodo. Como fuentes de corriente se utilizan transistores en la configuración de "seguidor de emisor". Los pares de electrodos situados más cerca del borne negativo siempre tienen que

extraer corriente de la solución puesto que el potencial tiende a ser mas elevado que el de su nodo de referencia correspondiente. Por esta razón se utilizan los transistores de tipo PNP que drenan esta corriente hacia el borne negativo de la fuente. Los pares de electrodos situados más cerca del borne positivo siempre
5 tienen que añadir corriente a la solución puesto que su potencial tiende a ser mas bajo que el de su nodo correspondiente. Para ello se utiliza un transistor de tipo NPN que extrae corriente del borne positivo. De esa forma no se afecta apreciablemente el potencial de los nodos de referencia.

10 Durante la electroforesis ocurren variaciones en la temperatura, concentración, pH, altura, etc. de la solución. Estas perturbaciones tienden a alterar el patrón de voltaje en los electrodos. La corriente necesaria para contrarrestar estos efectos es también manejada por los transistores.

15 El potencial de cada pareja de electrodos es similar al de su nodo de referencia pero se diferencia en cierto valor. La diferencia es provocada por la caída de voltaje entre los terminales base y emisor del transistor y en el diodo asociado a cada electrodo de la pareja. Esta caída es propia de las uniones PN de los elementos semiconductores de silicio y es aproximadamente igual a 0,7 volt.

20 El cambio de polaridad de los transistores y los diodos que ocurre en el centro del divisor introduce un error en el patrón de voltajes. Este error se puede compensar insertando diodos en serie con el resistor central del divisor de voltaje. De esta forma el potencial de los nodos de referencia se modifica en igual magnitud pero
25 sentido contrario al efecto de las caídas en los transistores y diodos de cada pareja.

Finalmente es necesario añadir un diodo en serie con los diodos que polarizan los electrodos situados sobre los lados L_1 y $L_{(M/2)+1}$ y que se conectan a los bornes negativo y positivo del alternador. Esto es necesario para homogeneizar el número
30 de caídas de voltaje (provocadas por uniones PN directamente polarizadas) en el camino entre los bornes del alternador y cada uno de los electrodos. Este camino para los electrodos situados sobre los lados 'C' y 'D' presenta dos uniones PN.

101

Por tanto, el circuito propuesto en esta invención consta de dos partes iguales que se conectan a la fuente de poder a través de otro circuito electrónico apropiado para alternar los campos eléctricos con la intensidad y duración de pulsos deseadas.

Ejemplos de realización:

Los siguientes ejemplos son ilustrativos del circuito que se describe pero en ninguna medida son limitativos del alcance de esta patente.

5

Ejemplo 1. Circuito para polarizar los electrodos de una cámara hexagonal de 18 electrodos.***Arreglo de electrodos.***

10

En la Figura 2 se muestra un grupo de electrodos 101 al 118 dispuestos sobre un hexágono regular a razón de tres electrodos por cada lado. En una de las direcciones de aplicación del campo eléctrico (denominada A) los electrodos 101, 102 y 103 (denominados grupo A+) se polarizan con el máximo potencial, cercano al potencial del borne positivo de la fuente de poder. Los electrodos 110, 111 y 112 (denominado grupo A-) se polarizan con el mínimo potencial, cercano a 0 volts. El resto de los electrodos se organizan en parejas (Tabla I). Ambos electrodos de cada pareja serán polarizados al mismo voltaje, el que será proporcional a la distancia desde cada pareja hasta los electrodos del grupo A-.

20

En la otra dirección de aplicación del campo eléctrico (denominada B) los electrodos 113, 114 y 115 (denominados grupo B+) se polarizan con el máximo potencial, cercano al potencial del borne positivo de la fuente de poder. Los electrodos 104, 105 y 106 (denominado grupo B-) se polarizan con el mínimo potencial, cercano a 0 volt. El resto de los electrodos se organizan en parejas (Tabla I). Ambos electrodos de cada pareja serán polarizados al mismo voltaje, el que será proporcional a la distancia desde cada pareja hasta los electrodos del grupo B-.

25

En este arreglo particular de electrodos la distancia 'dist' entre dos electrodos consecutivos es la misma. Sin embargo la distancia entre la pareja de electrodos 118-104 y los electrodos del grupo A+ es la mitad o sea 'dist/2'. Lo mismo ocurre con las parejas 113-109, 116-112 y 103-107 respecto a los electrodos de los grupos A-, B+ y B- respectivamente.

30

102

37

Tabla I. Parejas de electrodos y tipo de transistor que posee el repetidor de voltaje al que se conectan.

Dirección A		Dirección B		Tipo de transistor
118	104	118	112	NPN
117	105	117	111	
116	106	118	110	
115	107	101	109	
114	108	102	108	PNP
113	109	103	107	

Las filas muestran el número de los electrodos que deben polarizarse al mismo voltaje para generar un campo eléctrico homogéneo en las dos direcciones de aplicación A y B en una cubeta con una disposición de electrodos similar al de la figura 1.

Para generar los potenciales de referencia en esta cámara CHEF de tres electrodos por lado se necesitan siete resistores 201 y 202 conectados en serie (Figura 3). Los resistores 201 son de igual valor, los resistores 202 tiene la mitad de este valor. La cadena de resistores 201 y 202 se conectan a los potenciales positivo (+) y negativo (-) de una fuente de poder a través de conmutadores. Este divisor de voltajes genera los potenciales de referencia que aparecen en los nodos 203 y 204.

Los repetidores de voltaje 205 y 206 toman el voltaje de los nodos de referencia 203 y 204 para polarizar adecuadamente a los electrodos en las direcciones A y B.

En la Figura 4 se muestran con más detalles los repetidores de voltaje 205 y 206. La base del transistor 301 de polaridad NPN se conecta al nodo 203. El colector del transistor 301 se conecta al borne positivo (+) a través de conmutadores. El emisor del transistor 301 se conecta a los ánodos de dos diodos 302, los que a su vez se conectan por el cátodo a los electrodos cuyo potencial corresponde a ese nodo 203 en particular.

La base del transistor 303 de polaridad PNP se conecta al nodo 204. El colector del transistor 303 se conecta al borne negativo a través de conmutadores. El emisor del transistor 303 se conecta a los cátodos de dos diodos 304 los que a su vez se conectan por el ánodo a los electrodos cuyo potencial corresponde a ese nodo 204 en particular.

En la tabla I se señala los electrodos que se polarizan con transistores de tipo NPN (repetidor de voltaje 204) y PNP (repetidor de voltaje 205).

Los electrodos de los grupos A+ y B+ (Figura 5) se conectan al cátodo de diodos 401 que se unen por el ánodo. El ánodo de los diodos 401 se une al cátodo de otro diodo 402 que a su vez se une por el ánodo al borne positivo de la fuente a través de conmutadores.

Los electrodos de los grupos A- y B- se conectan al ánodo de diodos 403 que se unen por el cátodo. El cátodo de los diodos 403 se une al ánodo de otro diodo 404 que a su vez se une por el cátodo al borne positivo de la fuente a través de conmutadores. Los diodos 402 y 404 garantizan que las ramas que alimentan a los electrodos de los grupos A+, A-, B+ y B- tengan las mismas caídas de voltaje provocadas por las uniones PN que el resto de los electrodos del arreglo.

Los diodos 207 (Figura 3) son los que compensan los errores provocados por el cambio de polaridad de los transistores y los diodos en el patrón de voltaje.

En la Tabla II se presentan los voltajes teóricos y medidos en los electrodos de una cubeta CHEF. Los electrodos están dispuestos sobre los lados de un hexágono como el de la Figura 2. La separación entre los lados opuestos es 11,6 cm. La cubeta se llenó con 225 ml de solución tampón TBE 0,5x (TBE 1x: Tris 89 mM, Acido bórico 89 mM, EDTA 2 mM, pH 8,4) a 20 °C. Los voltajes se generaron con un circuito similar al presentado. Los resistores utilizados fueron de 470,0 ohm, para lograr la mitad del valor en los resistores 202 se colocaron dos en paralelo. Los transistores utilizados fueron MJE 340 y MJE 350 y los diodos 1N4007. La energía se obtuvo de una fuente de poder Macrodrive I cuya salida se ajustó a un voltaje

constante de 120,0 volt entre los bornes positivo (+) y negativo (-) en las direcciones A y B.

Tabla II. Valores teóricos y generados por el circuito presentado en los electrodos de una cubeta CHEF de 18 electrodos dispuestos sobre los lados de un hexágono.

Voltajes teóricos (Volt)	Voltajes reales (Volt)			
	Dirección A		Dirección B	
118,8	101, 102 y 103: 118,7		115, 114 y 113: 118,7	
108,8	118: 108,8	104: 108,8	116: 108,8	112: 108,8
89,3	117: 89,2	105: 89,2	117: 89,2	111: 89,2
69,8	116: 69,7	108: 69,7	118: 69,7	110: 69,8
50,2	115: 50,2	107: 50,3	101: 50,4	109: 50,3
30,7	114: 30,8	108: 30,8	102: 30,8	108: 30,8
11,2	113: 11,2	109: 11,2	103: 11,2	107: 11,2
1,4	112, 111 y 110: 1,4		104, 105 y 106: 1,4	

El número del electrodo, según la Figura 2, aparece en negrita.

El voltaje teórico se calculó considerando una caída típica de 0,7 volt en cada unión PN (en los diodos y entre la base y el emisor de los transistores) de los elementos semiconductores de silicio. Para el calculo se consideró a los transistores como elementos ideales que no poseen corriente de base.

Ejemplo 2. Circuito para polarizar los electrodos puntuales de una cámara hexagonal de 36 electrodos distribuidos no uniformemente.

En la Figura 6 se muestra un grupo de electrodos puntuales 501 al 536 dispuestos sobre un hexágono regular a razón de seis electrodos por cada lado. En una de las direcciones de aplicación del campo eléctrico (denominada A) los electrodos 501, al 506 (denominados grupo A+) se polarizan con el máximo potencial, cercano al potencial del borne positivo de la fuente de poder. Los electrodos 519 al 524 (denominado grupo A-) se polarizan con el mínimo potencial, cercano a 0 volts. El resto de los electrodos se organizan en parejas (Tabla III). Ambos electrodos de

cada pareja serán polarizados al mismo voltaje, el que será proporcional a la distancia desde cada pareja hasta los electrodos del grupo A-.

En la otra dirección de aplicación del campo eléctrico (denominada B) los electrodos
5 525 al 530 (denominados grupo B+) se polarizan con el máximo potencial, cercano
al potencial del borne positivo de la fuente de poder. Los electrodos 507 al 512
(denominado grupo B-) se polarizan con el mínimo potencial, cercano a 0 volt. El
resto de los electrodos se organizan en parejas (Tabla III). Ambos electrodos de
cada pareja serán polarizados al mismo voltaje, el que será proporcional a la
10 distancia desde cada pareja hasta los electrodos del grupo B-.

En este caso las distancias entre dos electrodos contiguos no es la misma. Por
ejemplo la distancia entre el electrodo 501 y el 502 es diferente a la distancia entre
el electrodo 502 y el electrodo 503.

15

Para generar los potenciales de referencia en esta cámara CHEF de seis electrodos
por lado se necesitan trece resistores 601, 602 y 603 conectados en serie (Figura
7). Los valores de resistencia de los resistores 601, 602 y 603 deben ser escogidos
de forma tal que el potencial entre cada electrodo sea proporcional a la distancia
20 entre cada electrodo y los electrodos de los grupos A- y B- para cada una de las
direcciones A y B, respectivamente. En este caso los resistores 601 fueron son de
348 ohm los resistores 602 son de 470 ohm y los resistores 603 son de 235 ohm. La
cadena de resistores 601, 602 y 603 se conectan a los potenciales positivo (+) y
negativo (-) de una fuente de poder a través de conmutadores. Este divisor de
25 voltajes genera los potenciales de referencia que aparecen en los nodos 604 y 605.
Los repetidores de voltaje 606 y 607 toman el voltaje de los nodos de referencia 604
y 605 para polarizar adecuadamente a los electrodos en las direcciones A y B. Los
repetidores de voltaje 606 y 607 son idénticos a los repetidores 205 y 206 (figura 3).
Se introducen diodos 608 en serie con los resistores para corregir los errores en el
30 patrón de voltajes provocados por el cambio de polaridad de los transistores que se
encuentran dentro de los repetidores de voltaje 606 y 607 activos

Para polarizar los electrodos de los grupos A+, A-, B+ y B- se utilizan diodos (Figura
8) en un circuito similar al presentado en el ejemplo 1. En este caso se utilizan seis

106
107

Los diodos 701 y 703 para polarizar los electrodos de los grupos A+ y A- pues este arreglo particular de electrodos presenta seis diodos por cada lado. La función de los diodos 702 y 704 es igual a los del ejemplo 1, garantizar que el potencial de todos los electrodos este afectado por el mismo número de caldas de voltaje.

5

Tabla III. Valores teóricos y generados por el circuito presentado en los electrodos de una cubeta CHEF de 36 electrodos dispuestos sobre los lados de un hexágono.

Voltajes		Voltajes reales (Volt)			
Teóricos (Volt)		Dirección A		Dirección B	
118,80	501,502,503,504,505,506	118,75	525,526,527,528,529,530	118,75	
113,18	538	113,15	507	113,15	531
104,85	535	104,70	508	104,75	532
93,62	534	93,40	509	93,40	533
85,28	533	85,05	510	85,00	534
73,405	532	73,90	511	73,85	535
65,72	531	65,65	512	65,55	536
54,48	530	54,40	513	54,30	501
46,15	529	46,15	514	46,10	502
34,92	528	34,90	515	34,95	503
26,58	527	26,80	516	26,80	504
15,35	526	15,35	517	15,35	505
8,95	525	8,95	518	8,95	506
1,4	524, 523, 522, 521, 520, 519	1,4	512, 511, 510, 509, 508, 507	1,4	

Las filas muestran el número y el voltaje de los electrodos que deben polarizarse al mismo potencial para generar un campo eléctrico homogéneo en las dos direcciones de aplicación A y B. La primera columna muestra el potencial teórico que corresponde a cada pareja de electrodos. El número del electrodo, según la figura 6, aparece en negrita. El voltaje teórico se calculó con las mismas consideraciones que en el ejemplo 1.

15

En la Tabla III se presentan los voltajes teóricos y medidos en los electrodos de una cubeta CHEF. Los electrodos están dispuestos sobre los lados de un hexágono como el de la Figura 6. La separación entre los lados opuestos es 11,6 cm. La

107
108

cubeta se llenó con 225 ml de solución tampón TBE 0,5x (TBE 1x: Tris 89 mM, Acido bórico 89 mM, EDTA 2 mM, pH 8,4) a 20 °C. Los voltajes se generaron con un circuito similar al presentado. La energía se obtuvo de una fuente de poder Macrodrive I cuya salida se ajustó a un voltaje constante de 120,2 volt entre los
5 bornes positivo (+) y negativo (-) en las direcciones A y B.

Los ejemplos que se han presentado son ilustrativos de la presente invención y no constituyen limitaciones a su alcance. Cubetas de diferente tamaño y forma, número y distribución de electrodos pueden ser polarizadas con circuitos similares al
10 mostrado variando solamente el número de elementos circuitales: transistores, diodos y resistores así como el valor de resistencia de estos últimos y estarían bajo el alcance de la presente invención.

108
109

Se adjuntan las siguientes figuras:

Figura 1. Sistema de referencia utilizado para describir la distribución de los
electrodos en las cámaras de ECP sistema CHEF que pueden ser polarizadas por el
circuito de la presente invención. Los electrodos se disponen sobre un polígono
regular de 'm' caras, donde 'm' es un número par entre 4 y 50. En cada lado del
polígono se colocan 'k' electrodos, donde 'k' es un número natural entre 1 y 10. Uno
de los lados del polígono (denominado L_1) se hace coincidir con el eje 'X' de un
sistema de coordenadas. El lado opuesto del polígono (denominado $L_{(m/2)+1}$) se
encuentra a una distancia $y=A$ del eje 'X'. A la izquierda de los lados L_1 y $L_{(m/2)+1}$ se
encuentra los lados C y a la derecha los lados D.

Figura 2. Esquema de la distribución de los 18 electrodos de una cubeta CHEF
hexagonal. Con los símbolos A+ y A- se indican los electrodos que se conectan a
borne positivo y negativo de una fuente de poder (a través de un circuito alternador)
para establecer un campo eléctrico en la dirección A. Con los símbolos B+ y B- se
indican los electrodos que se conectan a borne positivo y negativo de una fuente de
poder (a través de un circuito alternador) para establecer un campo eléctrico en la
dirección B.

Figura 3. Divisor de voltaje formado por diodos y resistores que se conecta a los
bornes de una fuente de poder (a través de un circuito alternador). Este circuito
genera los voltajes que polarizan una parte de los electrodos de una cubeta CHEF
hexagonal de 18 electrodos. A los nodos que se forman entre dos resistores se
conectan repetidores de voltaje.

Figura 4. Repetidores de voltaje. La base de los transistores se conecta a los nodos
del divisor de voltaje y al emisor se conectan dos diodos que a su vez se conectan a
una pareja de electrodos que debe ser polarizada al mismo potencial. En la parte
superior se encuentra un repetidor de voltaje con un transistor NPN cuyo colector se
conecta al borne positivo de una fuente de poder (a través de un circuito alternador).
En la parte inferior se encuentra un repetidor de voltaje con un transistor PNP cuyo

colector se conecta al borne positivo de una fuente de poder (a través de un circuito alternador).

Figura 6. A la izquierda se muestra el circuito que polariza los electrodos de los grupos A+ o B+ en una cubeta CHEF modelo hexagonal de 18 electrodos. El ánodo del diodo que se encuentra en la parte superior se conecta al borne positivo de una fuente de poder a través de conmutadores. A la derecha se muestra el circuito que polariza los electrodos de los grupos A- o B- en una cubeta CHEF modelo hexagonal de 18 electrodos. El cátodo del diodo que se encuentra en la parte inferior se conecta al borne negativo de una fuente de poder a través de conmutadores.

Figura 6. Esquema de la distribución de los 36 electrodos de una cubeta CHEF hexagonal. Con los símbolos A+ y A- se indican los electrodos que se conectan a borne positivo y negativo de una fuente de poder (a través de un circuito alternador) para establecer un campo eléctrico en la dirección A. Con los símbolos B+ y B- se indican los electrodos que se conectan a borne positivo y negativo de una fuente de poder (a través de un circuito alternador) para establecer un campo eléctrico en la dirección B.

Figura 7. Divisor de voltaje formado por diodos y resistores que se conecta a los bornes de una fuente de poder (a través de un circuito alternador). Este circuito genera los voltajes que polarizan una parte de los electrodos de una cubeta CHEF hexagonal de 36 electrodos. A los nodos que se forman entre dos resistores se conectan repetidamente el voltaje.

Figura 8. En la parte superior de la figura se muestra el circuito que polariza los electrodos de los grupos A+ o B+ en una cubeta CHEF modelo hexagonal de 36 electrodos. El ánodo del diodo que se encuentra en la parte superior del circuito se conecta al borne positivo de una fuente de poder a través de conmutadores. En la parte inferior de la figura se muestra el circuito que polariza los electrodos de los grupos A- o B- en una cubeta CHEF modelo hexagonal de 36 electrodos. El cátodo del diodo que se encuentra en la parte inferior del circuito se conecta al borne negativo de una fuente de poder a través de conmutadores.

VENTAJAS DE LA SOLUCIÓN PROPUESTA.

- 1) Se polarizan correctamente los electrodos de cubetas tipo CHEF de diferente forma, tamaño, número y distribución de electrodos.
- 5 2) El circuito es más sencillo que los sistemas de imposición de voltajes anteriores, sin embargo el patrón de voltajes generado en los electrodos es tan o más exacto que el generado por estos.
- 3) No existe la posibilidad de cortocircuito entre los bornes positivo y negativo de las fuentes de poder empleadas.
- 10 4) Se logran polarizar igualmente las parejas de electrodos situadas en la misma línea equipotencial teórica.
- 5) Los circuitos que generan el campo eléctrico en las dos direcciones son independientes.
- 6) El número de transistores que emplea es al menos tres veces menor que los
- 15 sistemas anteriores.
- 7) El circuito es más económico y es más fácil su reparación y mantenimiento.

20

25

30

REIVINDICACIONES

1. Circuito para imponer los voltajes en los electrodos de las cubetas del sistema CHEF de electroforesis de campos pulsantes, el cual requiere de una fuente de poder, de otro circuito existente para alternar los campos eléctricos o alternador que posee dos bornes positivos y dos negativos y de una cámara de electroforesis que se llena con una solución tampón y que posee un arreglo de electrodos colocados sobre un contorno regular cerrado de 'm' lados, existiendo 'k' electrodos sobre cada lado, circuito que está caracterizado por estar formado por dos circuitos de imposición idénticos que se conectan al alternador de forma que solo uno de los dos circuitos de imposición reciba energía eléctrica a la vez.
2. Circuito para imponer los voltajes en los electrodos de las cubetas del sistema CHEF de electroforesis de campos pulsantes de acuerdo con la reivindicación No.1 que posee un primer circuito de imposición caracterizado porque: uno de los bornes negativos del alternador se conecta a través de diodos a todos los 'k' electrodos del lado L_1 , el borne positivo correspondiente a ese borne negativo del alternador se conecta a través de diodos a todos los 'k' electrodos situados sobre el lado $L_{(m/2)+1}$ y entre esos bornes negativo y positivo del alternador se conectan además los extremos de un divisor de voltaje formado por $n+1$ resistores R_i y una cantidad variable de diodos, donde 'n' es igual a ' $k \cdot (m-2)/2$ '.
3. Circuito para imponer los voltajes en los electrodos de las cubetas del sistema CHEF de electroforesis de campos pulsantes de acuerdo con las reivindicaciones No. 1 y No. 2 caracterizado porque: cada electrodo del lado L_1 del polígono regular se conecta al ánodo de un diodo, los cátodos de esos diodos se conectan entre sí y al ánodo de un segundo diodo y el cátodo de ese segundo diodo se conecta al borne negativo del alternador.
4. Circuito para imponer los voltajes en los electrodos de las cubetas del sistema CHEF de electroforesis de campos pulsantes de acuerdo con las reivindicaciones No. 1 y No. 2 caracterizado porque cada electrodo del lado $L_{(m/2)+1}$ del polígono regular se conecta al cátodo de un diodo, los ánodos de esos

diodos se conectan entre sí y al cátodo de un segundo diodo y el ánodo de ese segundo diodo se conecta al borne positivo del alternador.

- 5 5. Circuito para imponer los voltajes en los electrodos de las cubetas del sistema CHEF de electroforesis de campos pulsantes de acuerdo con la reivindicación No.1 y No. 2 caracterizado porque cada nodo N_i que se forma entre los resistores R_i y R_{i+1} del divisor de voltaje se conecta a la entrada de un repetidor de voltaje que contiene un transistor tipo PNP o NPN y la salida de cada repetidor de voltaje se conecta a una de las parejas de electrodos P_i , donde i es
10 un número natural comprendido entre 1 y n .
- 15 6. Circuito para imponer los voltajes en los electrodos de las cubetas del sistema CHEF de electroforesis de campos pulsantes de acuerdo con las reivindicaciones No. 1, No. 2 y No. 5 caracterizado porque la entrada de los repetidores de voltaje que contienen un transistor tipo PNP se conecta a los nodos N_i y su salida a los pares de electrodos P_i , donde i es un número natural entre 1 y $n/2$.
- 20 7. Circuito para imponer los voltajes en los electrodos de las cubetas del sistema CHEF de electroforesis de campos pulsantes de acuerdo con las reivindicaciones No. 1, No. 2, No. 5 y No. 6 caracterizado porque el transistor tipo PNP está configurado como seguidor de emisor, su base se conecta al nodo N_i del divisor de voltaje, su colector al borne negativo del alternador y su emisor a los cátodos de dos diodos cuyos respectivos ánodos se conectan con los
25 electrodos del par de electrodos P_i , donde i es un número natural entre 1 y $n/2$.
- 30 8. Circuito para imponer los voltajes en los electrodos de las cubetas del sistema CHEF de electroforesis de campos pulsantes de acuerdo con las reivindicaciones No. 1, No. 2 y No. 5 caracterizado porque la entrada de los repetidores de voltaje que contienen un transistor tipo NPN se conecta a los nodos N_i y su salida a los pares de electrodos P_i , donde i es un número natural entre $[(n/2)+1]$ y n .

113
114.

9. Circuito para imponer los voltajes en los electrodos de las cubetas del sistema CHEF de electroforesis de campos pulsantes de acuerdo con las reivindicaciones No. 1, No. 2, No. 5 y No. 8 caracterizado porque el transistor tipo NPN está configurado como seguidor de emisor, su base se conecta al nodo N_i del divisor de voltaje, su colector al borne positivo del alternador y su emisor a los ánodos de dos diodos cuyos respectivos cátodos se conectan con los electrodos del par de electrodos P_i , donde i es un número natural entre $[(n/2)+1]$ y n .
10. Circuito para imponer los voltajes en los electrodos de las cubetas del sistema CHEF de electroforesis de campos pulsantes de acuerdo con las reivindicaciones No. 1 y No. 2 caracterizado porque se pueden conectar en serie con cada uno de los resistores R_i del divisor de voltaje hasta 10 diodos.
11. Circuito para imponer los voltajes en los electrodos de las cubetas del sistema CHEF de electroforesis de campos pulsantes de acuerdo con las reivindicaciones No.1 el cual requiere de una cámara de electroforesis que posee un arreglo de electrodos colocados sobre un contorno regular cerrado de 'm' lados, existiendo 'k' electrodos sobre cada lado caracterizado porque 'm' es un número natural par comprendido entre 4 y 50 y 'k' es un número natural comprendido entre 1 y 10.
12. Circuito para imponer los voltajes en los electrodos de las cubetas del sistema CHEF de electroforesis de campos pulsantes de acuerdo con la reivindicación No. 1 caracterizado porque el segundo circuito de imposición está unido al primer circuito de imposición a través de los diodos de los repetidores de voltaje.

114/115

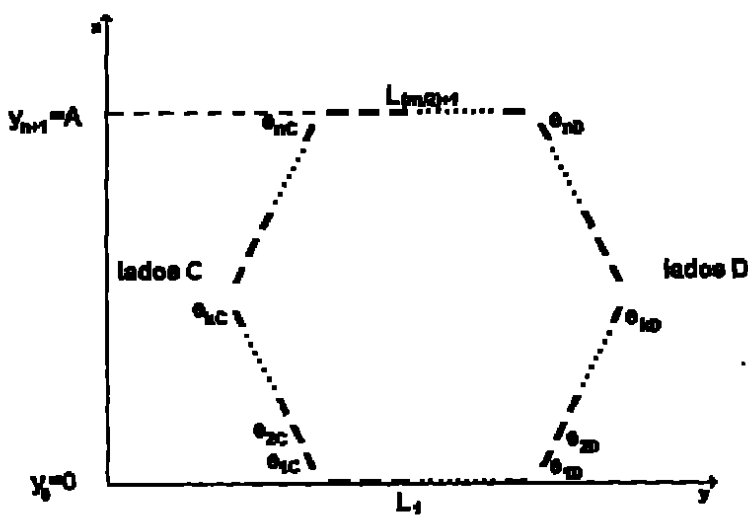


Fig. 1

116

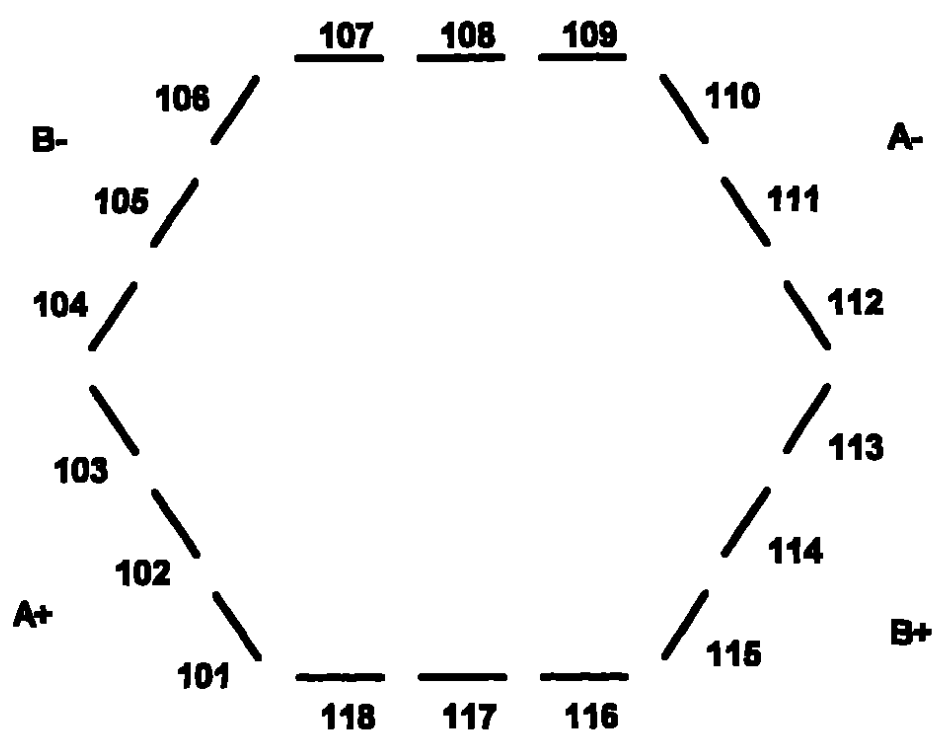


Fig. 2

116
117

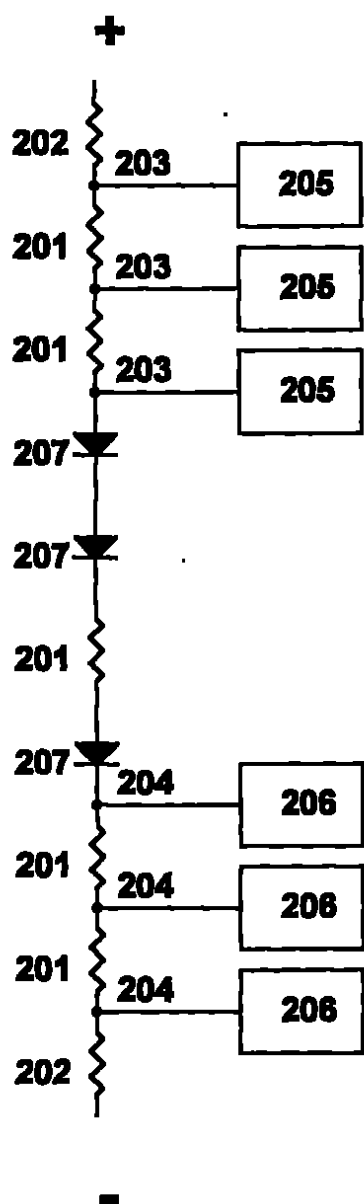


Fig. 3

118

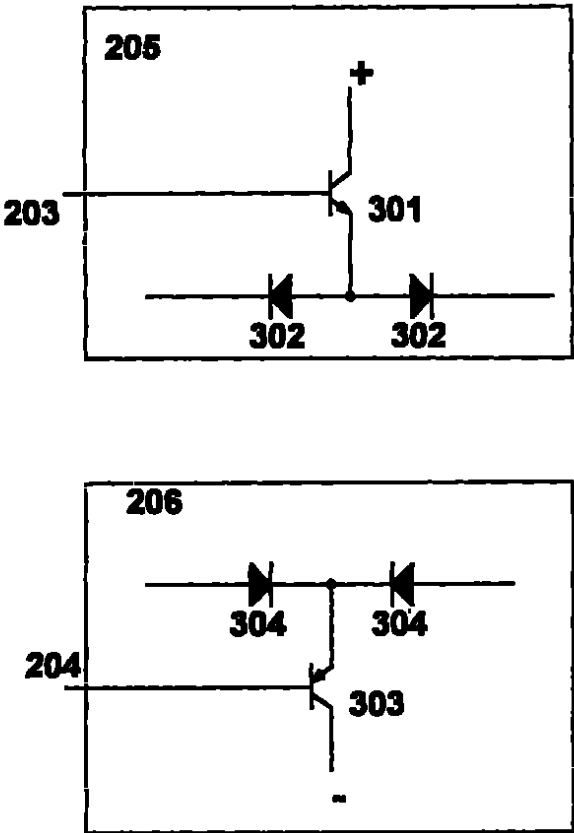


Fig. 4

118
119.

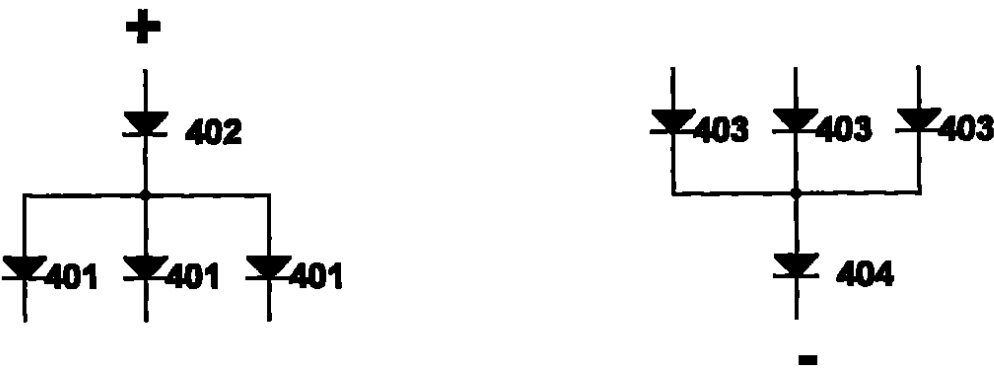


Fig. 5

119
120

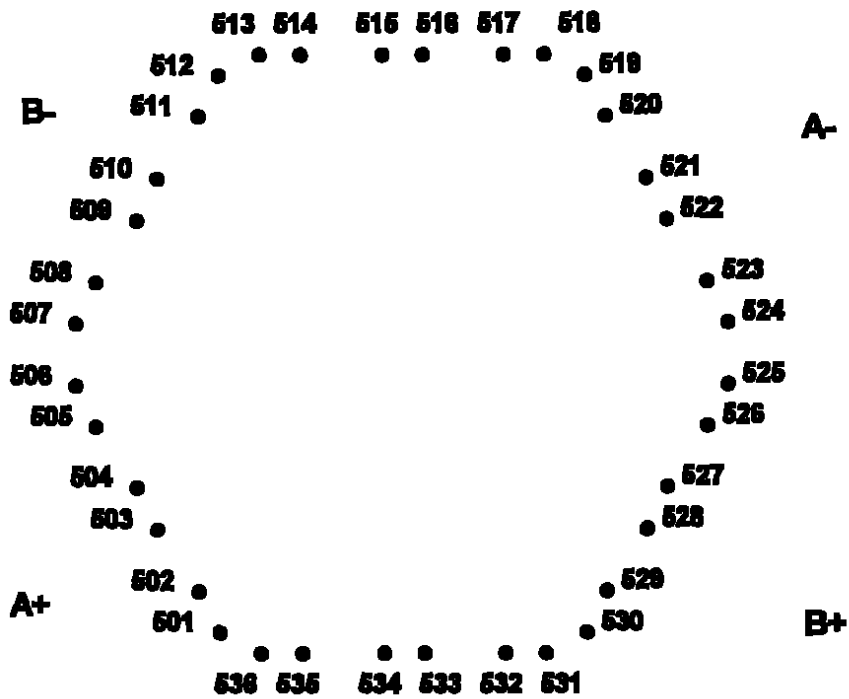


Fig. 6

106
121

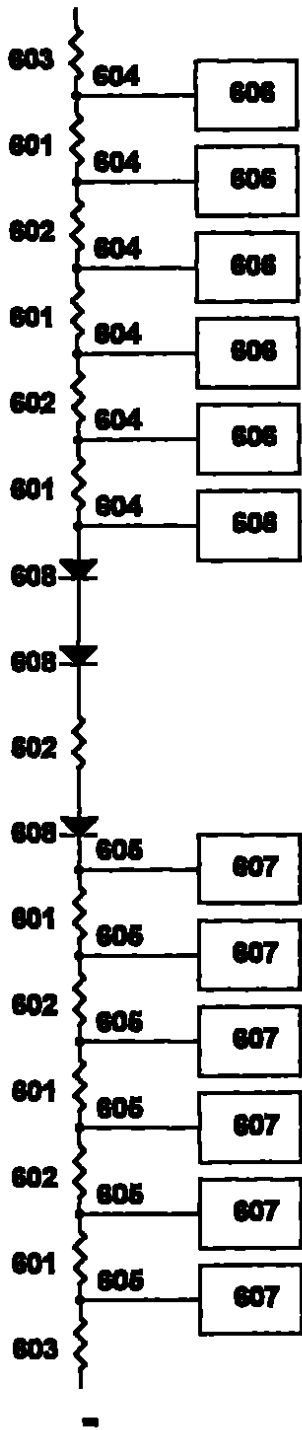


Fig. 7

Handwritten marks: "K1" and a stylized signature.

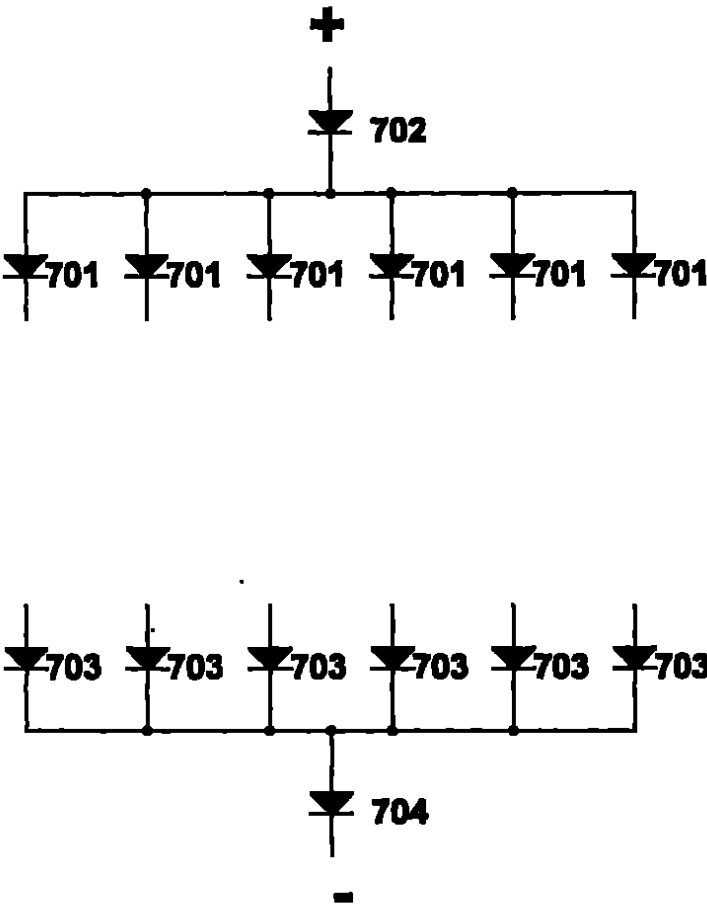


Fig. 8



2020
Bogotá, D.C.,

Doctore:
Margarita Castellanos
Apoderado
Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC).

Oficio N° 03234

ASUNTO:	Radicación N°	03-107321
	Solicitud Internacional	PCT/CU2002/00004
	Fecha inicio fase nacional	08/01/2004
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	430
	Folios	001

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

- ☐ La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 28-k) Decisión 486).

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones.

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha,

26 MAR. 2004