

CASTELLANOS M. & CO
ABOGADOS
Calle 94A No. 7A-09
Bogotá D.C.

144
145

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 03-107321- -00008-0000

Fecha: 2007-04-24 14:49:23 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eje: 379 FASENACIONALII
Act. 444 RESPUESTAREQUE Folios: 48

Señora

JEFE DE LA DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

Superintendencia de Industria y Comercio

Ministerio de Desarrollo Económico

E. S. D.

Re.: Expediente No. 03.107.321

Solicitud de Patente de Invención titulada: **"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)

RESPUESTA AL EXAMEN DE FONDO

Yo, **MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO**, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pie de mi firma, atentamente me permito presentar respuesta al oficio No. 14303 notificado por fijación en lista del 11 de diciembre de 2006, para el cual solicite una prórroga el 12 de febrero de 2007 y estando dentro del término legal en los siguientes términos:

1. CLARIDAD DE LA SOLICITUD

1.1 Claridad de la Descripción:

En cuanto a la claridad de la solicitud, el examinador menciona:

- *que la descripción no permite identificar una forma de ejecución clara y completa de la materia reivindicada, porque se hace énfasis en el sistema de referencia pero no se divulga una disposición de circuito que permita ser ejecutada.*
- *Se menciona un "alternador", el cual está mal designado en términos técnicos y no se presenta en las figuras.*
- *Existen expresiones no claras y no usuales en el lenguaje técnico.*
- *Las unidades de medida no se transcribieron correctamente*

Con el objeto de atender a las anteriores observaciones y conforme lo establece el artículo 34 de la Decisión 486: **"El solicitante de una patente podrá pedir que se modifique la solicitud en cualquier momento del trámite. La modificación no podrá implicar una ampliación de la protección que correspondería a la divulgación contenida en la solicitud inicial"**, me permito presentar con este escrito, nuevos capítulos descriptivo y reivindicatorio como sustitutivos de los anteriormente presentados, los cuales no amplían el alcance de la invención y han sido revisados en su redacción, terminología y unidades de medida empleadas. Adicionalmente, presento cambio de título de la invención por: **"CIRCUITO DE IMPOSICION DE POTENCIALES ELECTRICOS EN LOS ELECTRODOS DE LAS CUBETAS DEL SISTEMA CHEF DE ELECTROFORESIS DE CAMPOS PULSANTES"**

En cuanto a las objeciones arriba mencionadas, respondo al señor examinador de la siguiente manera:

- El examinador refiere que *"se hace énfasis en el sistema de referencia"*. Esto es necesario puesto que *el objeto de la presente invención es un circuito de polarización o imposición de potenciales eléctricos en los electrodos de cámaras de ECP sistema CHEF*. Estas cámaras se caracterizan por poseer un arreglo de electrodos que se organizan en forma de polígono regular. La cantidad de lados y el número de electrodos que poseen estas cámaras no son únicos. En la Memoria descriptiva epígrafe 'Nivel Conocido de la Técnica. Características de las Soluciones Técnicas Análogas' se hace referencia a ejemplos conocidos en el estado del arte y donde se describen cámaras CHEF con diferentes disposición y número de electrodos. El alcance de la presente invención no está limitado a un tipo particular de cámara CHEF con electrodos dispuestos en forma de un único polígono regular o una cantidad única de electrodos. El circuito de imposición descrito en la presente invención representa un conjunto de circuitos con la misma configuración pero para materializar un circuito en particular, el número de componentes eléctricas que lo forman depende de la cámara CHEF particular que debe polarizar. Como bien apunta el examinador el sistema de referencia no es objeto de invención pero su empleo ayuda a describir los circuitos de imposición que se pretenden proteger. El sistema de referencia permite que el número de componentes de cada circuito se describa en función de la cantidad y distribución de electrodos que pose cada cámara, específicamente del número de lados del polígono formado por los electrodos y de la cantidad de electrodos en cada lado del polígono.

Por otro lado, el solicitante disiente del señor examinador cuando éste afirma que no se divulga una disposición de un circuito que permita ser ejecutada, pues en la memoria descriptiva se divulga claramente la información necesaria para que un técnico medio en la materia lleve a cabo la invención, más específicamente, llamo la atención de

ese Despacho sobre la sección '*Ejemplos de realización:*' sub-epígrafes '*Ejemplo 1*' y '*Ejemplo 2*' y las antiguas figuras 3, 4, 5, 7 y 8 (nuevas figuras 4, 5, 6, 8 y 9) donde se describen detalladamente dos circuitos de imposición para polarizar los electrodos de dos cámaras de 18 y 36 electrodos dispuestos en forma de hexágono a razón de 3 y 6 electrodos por cada lado del polígono regular (hexágono). De allí que cualquier técnico de nivel medio pueda evaluar y realizar esta invención basándose en la descripción y en estos ejemplos particulares que no son en modo alguno limitativos del alcance de la presente invención.

- El solicitante acepta que el término "alternador" está designado por un término mal empleado el cual se ha substituido por "circuito conmutador". Adicionalmente, se incluyó una nueva figura (figura 2) donde se muestra el 'circuito conmutador', el cual ahora se describe en 'Esencia de la invención'. Llamo la atención de ese Despacho sobre el hecho que la nueva figura 2 que incluye el "alternador" así como su descripción respectiva no fueron inicialmente incluidas en la descripción puesto que este elemento NO es objeto de invención de la presente solicitud y solo se presenta para ilustrar la conexión entre el objeto de invención y una fuente de poder. Así entonces, la inclusión del circuito conmutador responde al comentario del examinador de que '...el circuito de "imposición" de voltajes aparece aislado de los demás elementos del sistema de referencia...', para dar claridad sobre su presencia en la descripción.

- El solicitante coincide con el examinador que las expresiones '*sobre los lados...*', '*colocados sobre el lado...*' y otras similares no son claras y podrían llevar a errores de interpretación. En consecuencia, tales expresiones fueron enmendadas a lo largo de la Memoria Descriptiva.

- Las unidades de medida empleadas se modificaron de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades. Específicamente, la unidad "volt" fue reemplazada por "V", "mM" por mmol/l, "ohm" por Ω y el término "voltaje" por "potencial eléctrico", excepto para nombres tales como "divisor de voltaje".

En conclusión, las objeciones por claridad de la descripción se deben tener por superadas toda vez que el nuevo capítulo descriptivo sí cumple con el requisito de claridad estipulado en el Artículo 28 de la Decisión 486.

1.2 Claridad de las Reivindicaciones

El capítulo reivindicatorio también se ha modificado con el objeto de dar cumplimiento a los requisitos de claridad y de superar las objeciones del señor examinador. Atendiendo a

las observaciones hechas a la claridad de las reivindicaciones, se han efectuado las siguientes modificaciones:

En la reivindicación 1:

- La nueva Reivindicación 1 se ha redactado en términos del producto de la presente invención (circuito) y en consecuencia es clara toda vez que no queda duda que pertenece a la categoría de producto y no de procedimiento. Así entonces, siguiendo la recomendación del examinador, la nueva reivindicación 1 define un *"Circuito de imposición..."* y no un *"Circuito para imponer..."*. Adicionalmente, como se mencionó antes, el término *"voltajes"* ha sido reemplazado por *"potenciales eléctricos"* que es el apropiado según el Sistema Internacional de Unidades (SIU).

- La frase *'requiere de una fuente de poder'* fue remplazada por *'requiere de una fuente de poder con un borne negativo y otro positivo'* para dar precedencia a los bornes de la fuente. Tal inclusión no constituye materia nueva pues hay numerosas referencias a estos bornes en la 'Memoria Descriptiva', ver por ejemplo: Pág. 7 lin. 11, Pág. 13 lin. 3, 4 y 7 Pág. 15 lin. 15 y 23 y Pág. 17 lin. 12, entre otros.

- La frase *'contorno regular'* fue remplazada por *'polígono regular'*. Tal inclusión no constituye materia nueva pues hay numerosas referencias al *'polígono regular'* en la 'Memoria Descriptiva', ver por ejemplo: Pág. 3 lin. 10, 12 y 15, Pág. 8 lin. 28, 31 y 32 Pág. 10 lin. 9, entre otros.

- Todas las referencias a *'medios'* fueron sustituidas por las correspondientes componentes electrónicas o combinación de ellas que conforman el circuito de la presente invención. La terminología empleada en las viñetas fue modificada para que subrayaran características estructurales del circuito. Todas las referencias a características de uso fueron eliminadas.

- La nueva primera viñeta incluye parte de la anterior Reivindicación 3. La frase *'circuitos de imposición idénticos'* fue sustituida por *'partes idénticas'* lo que es solo un cambio de terminología que evita ambigüedades al referirse al circuito de imposición en su conjunto o a las dos partes idénticas que lo conforman. Fue introducida la frase *'conectadas a los bornes positivo y negativo de la fuente de poder a través del circuito conmutador'*.

Estos cambios no constituyen materia nueva pues en la 'Memoria Descriptiva' Pág. 14 lin. 1 se dice *'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.'* y en la

Pág. 22 lin. 15 se dice *'electrodos que se conectan a borne positivo y negativo de una fuente de poder (a través de un circuito alternador)'*.

- La anterior segunda viñeta fue dividida en dos para mejorar su comprensión y ahora son las nuevas segunda y tercera viñetas. La frase *'a los bornes negativos y positivos del alternador'* fue sustituida por *'el borne negativo de la fuente de poder a través del circuito conmutador'* y por *'el borne positivo de la fuente de poder a través del circuito conmutador'*. El cambio no constituye materia nueva (ver 'Memoria Descriptiva' Pág. 22 lin. 22 – 23 y Pág. 23 lin. 21 – 22).

- Las anteriores tercera, cuarta y quinta viñeta fueron reorganizadas y ahora son las nuevas cuarta y quinta viñetas. En la nueva cuarta viñeta fue introducida la frase *'conectado entre los bornes positivo y negativo de la fuente de poder a través del circuito conmutador'*. El cambio no constituye materia nueva (ver 'Memoria Descriptiva' Pág. 19 lin. 22 – 25, Pág. 22 lin. 22 y 23, Pág. 23 lin 5 – 11 y 27 – 34).

- Las anteriores sexta y séptima viñetas fueron eliminadas porque no aportaban ninguna característica estructural nueva.

- En la nueva reivindicación 2, la frase *'se conecta al alternador'* fue sustituida por *'se conectan a los bornes positivo y negativo de la fuente de poder a través del circuito conmutador'*. El cambio no constituye materia nueva (ver Memoria descriptiva Pág. 14 lin. 1 y Pág. 22 lin. 15).

- La anterior reivindicación 3 fue eliminada y la materia que ella protegía esta contenida en la primera viñeta de la nueva Reivindicación 1.

- La anterior Reivindicación 4 fue eliminada.

- La nueva reivindicación 3 es la anterior reivindicación 5. La frase *'se conecta a uno de los bornes negativos del alternador'* fue sustituida por *'se conecta al borne negativo de la fuente de poder a través del circuito conmutador'*. El cambio no constituye materia nueva (ver Memoria Descriptiva Pág. 14 lin. 1 y Pág. 22 lin. 15). Las dependencias múltiples fueron enmendadas y la nueva reivindicación 3 solo depende de la nueva reivindicación 1.

- La nueva reivindicación 4 es la anterior reivindicación 6. La frase *'se conecta a uno de los bornes positivos del alternador'* fue sustituida por *'se conecta al borne positivo de la fuente de poder a través del circuito conmutador'*. El cambio no constituye materia nueva (ver Memoria descriptiva Pág. 14 lin. 1 y Pág. 22 lin. 15). Las dependencias múltiples

fueron enmendadas y la nueva reivindicación 4 solo depende de la nueva reivindicación 1.

- La nueva reivindicación 5 es la anterior reivindicación 7. La primera parte de la anterior reivindicación 7 fue eliminada pues ahora forma parte de la nueva Reivindicación 1, viñeta 4.

- La nueva reivindicación 6 es la anterior reivindicación 8. La frase *'conectado a uno de los bornes negativos del alternador'* fue sustituida por *'conectado al borne negativo de la fuente de poder'* y la frase *'conectado a uno de los bornes positivos del alternador'* fue sustituida por *'conectado al borne positivo de la fuente de poder'*. Los cambios no constituyen materia nueva (ver Memoria descriptiva Pág. 16 lin. 27, Pág. 17 lin. 2, Pág. 22 lin. 31, Pág. 23 lin. 1).

- La anterior reivindicación 9 fue eliminada.

- La nueva reivindicación 7 es la anterior reivindicación 10. Se reorganizó ligeramente el orden de las palabras para mejorar su comprensión. Las dependencias múltiples fueron enmendadas y la nueva reivindicación 7 solo depende de la nueva reivindicación 1.

- La nueva reivindicación 8 es la anterior reivindicación 11. Se reorganizó ligeramente el orden de las palabras para mejorar su comprensión. Las dependencias múltiples fueron enmendadas y la nueva reivindicación 8 solo depende de la nueva reivindicación 1.

- Las anteriores reivindicaciones 12, 13 y 14 fueron eliminadas pues no aportaban ninguna característica estructural nueva.

- La nueva reivindicación 9 es la anterior reivindicación 15. La frase *'contorno regular cerrado'* fue reemplazada por *'polígono regular'*. El cambio no constituye materia nueva (ver Memoria Descriptiva Pág. 3 lin. 10, 12 y 15, Pág. 8 lin. 28, 31 y 32 y Pág. 10 lin. 9).

Así entonces, con el nuevo pliego de 9 reivindicaciones y la nueva memoria descriptiva mencionados anteriormente se deben tener por superadas las objeciones hechas a la claridad de la solicitud. Las modificaciones hechas al pliego reivindicatorio responden a los comentarios del examinador como se explica a continuación:

El nuevo pliego reivindicatorio cumple con el requisito de claridad estipulado por el art. 30 de la Decisión 486 toda vez que el circuito de la invención se define en términos de

un producto, esto es, por las partes que lo componen y la configuración especial de estas que permiten cumplir con el objeto de la invención. Por otra parte, ahora no se hace referencia alguna al "uso de unos componentes" como objetó el examinador, sino que se establece claramente el producto según sus características técnicas.

La nueva reivindicación 1 sí tiene sustento descriptivo puesto que los "medios" a los que se hacía referencia en el anterior capítulo reivindicatorio fueron sustituidos por las correspondientes componentes electrónicas que componen el circuito y que están debidamente soportadas por la descripción como se indicó anteriormente. Específicamente la palabra '*medios*' fue remplazado por:

- '*diodos*'. Ver nueva Reivindicación 1 segunda y tercera viñetas. La sustitución no constituye material nueva, solo incorpora la materia de la anterior Reivindicación 4.
- '*un divisor de voltaje formado por resistores y diodos*'. Ver nueva Reivindicación 1 cuarta viñeta. La sustitución no constituye materia nueva, solo incorpora parte de la materia de la anterior Reivindicación 7.
- '*repetidores de voltaje... cada repetidor está formado por un solo transistor y una pareja de diodos*'. Ver nueva Reivindicación 1 quinta viñeta. La sustitución no constituye materia nueva, solo incorpora parte de la materia de la anteriores Reivindicaciones 9, 10 y 11.
- las otras referencias a '*medios*' en la anterior reivindicación 1 fueron eliminadas en la nueva Reivindicación 1.

Como consecuencia de las anteriores sustituciones las anteriores Reivindicaciones 4 y 9 fueron eliminadas.

Teniendo en cuenta las modificaciones descritas, queda claro que las reivindicaciones 1 a 9 sí tienen sustento en la descripción y que por lo tanto cumplen con el artículo 30 de la Decisión 486; es decir son claras, concisas y están enteramente sustentadas en la descripción.

Con relación al contenido del preámbulo de la reivindicación 1, considero que la objeción por referencias al uso que se le da al circuito debe tenerse por superada pues en la nueva reivindicación 1 se establece claramente que la invención se refiere a un producto, esto es, al circuito de imposición de potenciales eléctricos en los electrodos de las cámaras del sistema CHEF de Electroforesis de Campos Pulsantes, el cual, se define por los "parámetros establecidos", esto es, por las partes que los conforman.

Adicionalmente, el examinador considera que en el preámbulo se resaltan componentes del sistema de referencia, en particular del contorno con una generalización

matemática conocida en el estado del arte, lo que no define el circuito. Me permito poner de presente a ese Despacho que, como lo especifica el Manual Andino de Patentes¹, el preámbulo de una reivindicación indicará cual es la materia de la invención (producto) y seguidamente las características técnicas necesarias para definir la invención que combinadas forman parte del estado del arte. En este orden de ideas, se entiende que el preámbulo de la reivindicación 1 es claro toda vez que la mención al sistema de referencia, como se explicó anteriormente, es necesaria para definir la invención (circuitos de imposición) así como también la descripción de la generalización del polígono regular que, según el examinador es conocida en el estado del arte y por lo tanto no debe entenderse como no claro puesto que está precisamente en el preámbulo y no de la parte caracterizante que, por su parte, define el circuito por las características técnicas que permiten cumplir el objeto de la presente invención.

El examinador apunta que las anteriores *'reivindicaciones 2 a 15 no tienen enlace lógico con la independiente'* y que *'la dependencia de las reivindicaciones 5, 6, 10 y 11 es inaceptable'*. El nuevo grupo de reivindicaciones 2 a 9, supera dichas objeciones puesto que las nuevas reivindicaciones dependientes tienen enlace lógico y las dependencias están correctamente establecidas.

Así entonces, la nueva Reivindicación 2 aclara la forma en que se conectan las dos partes integrantes del circuito a la fuente de poder. Las nuevas Reivindicaciones 3 y 4 aclaran la forma en que se interconectan los diodos nombrados en las viñetas segunda y tercera de la nueva Reivindicación 1. La nueva Reivindicación 5 delimita la cantidad de diodos y resistencia que forman el divisor de voltaje nombrado en la cuarta viñeta de la nueva Reivindicación 1. Las nuevas Reivindicaciones 6 y 7 aclaran la forma en que se interconectan el transistor y los diodos que forman el repetidor de voltaje nombrado en la quinta viñeta de la nueva Reivindicación 1. La reivindicación 9 delimita la cantidad de componentes del circuito de imposición a través del número de lados y la cantidad de electrodos por lado que poseen los polígonos regulares formados por los electrodos de las cámaras del sistema CHEF a las que el circuito es conectado. Todas las dependencias múltiples fueron eliminadas.

2. NO CUMPLIMIENTO DE LOS REQUISITOS DE PATENTABILIDAD:

El examinador establece que en la reivindicación 1 se incluye "mezclas de características técnicas no permitas" puesto que se emplean características estructurales y de función.

¹ MANUAL ANDINO DE PATENTES, Numeral 4.3. página 36.

En la nueva Reivindicación 1 fueron eliminadas o enmendadas todas las características de funcionamiento, ahora solo se describen y reivindican las características estructurales distintivas del objeto de la presente invención. Por ejemplo todas las referencias a '*para imponer*', '*establece*', '*proporciona medios*' etc. fueron eliminadas o enmendadas como se describió anteriormente.

En conclusión, la presente solicitud cumple con las disposiciones del artículo 14 de la Decisión 486, así con como también con el requisito de claridad establecido por los artículos 28 y 30 y, por lo tanto, respetuosamente solicito a ese Despacho que se continúe el trámite de la presente solicitud.

3. ANEXOS

Capítulo reivindicatorio

Descripción

Nuevas figuras 1 a 9

Formato de modificaciones

Recibo de pago por modificaciones

Señora Jefe,


Margarita Castellanos Abondano

C.C. No. 39.779.654 de Usaquén

T.P.A. No. 70819 del Cons. Sup. de la Judicatura

Carrera 9ª. No. 93-09 - Bogotá, D.C.

Teléfono: 6107420 - 6107480

Bogotá D.C. 24 ABR. 2007

153
154



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Espacio reservado para el adhesivo de radicación

FORMULARIO ÚNICO DE CORRECCIONES Y MODIFICACIONES

①

SOLICITUD DE:

☐ Corrección de Error Material

☒ Modificación a una solicitud

②

SOLICITANTE

Nombre: **CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CNIC)**

Dirección: **Ave. 25 No. 15202 Esq. A 158, Cubanacán, Playa, 12-100 La Habana, Cuba.**

Nacionalidad o Domicilio: **La Habana, Cuba**

Lugar de Constitución: **Cuba**

Teléfono:

Fax:

E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

③

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: **MARGARITA CASTELLANOS A.**

Dirección: **CALLE 94A No. 7A-09**

Teléfono: **610 74 20** Fax: **610 07 06**

E-mail: **info@castellanosyco.com**

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

38779.654

TPA

70.819

④

Número de Expediente:

03.107.321

⑤

Descripción de la corrección o modificación solicitada:

Presento nuevo capítulo descriptivo y nuevo pliego reivindicatorio con 9 reivindicaciones sobre el cual solicito de efectúe el examen de patentabilidad de la solicitud.

Presento cambio de título de la invención por:

"CIRCUITO DE IMPOSICIÓN DE POTENCIALES ELECTRICOS EN LOS ELECTRODOS DE LAS CUBETAS DEL SISTEMA CHEF DE ELECTROFORESIS DE CAMPOS PULSANTES"

⑥

Comprobante de pago No.

07-32.479

Fecha

Abril 23

de 2007

⑦

Anexos:

☒

Comprobante de pago de la tasa.

☐

Podere el fuere el caso, junto con la sustitución de los mismos a mi favor.

☐

Documento que acredita la existencia y representación legal de las partes, cuando sean personas jurídicas

☒

Nuevo capítulo reivindicatorio

⑧

NOMBRE **MARGARITA CASTELLANOS A.**

FIRMA

Margarita Castellanos

CC 38779.654 Usatión: TPA 70.819

24 ABR 2007

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página - MCA/cca-P4900

CIRCUITO DE IMPOSICIÓN DE POTENCIALES ELÉCTRICOS 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.

10

CAMPO O RAMA DE LA TÉCNICA CON LA QUE SE RELACIONA LA INVENCION: 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.

20 **La electroforesis**

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 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.

25

30

Las moléculas de ADN se cargan negativamente cuando se preparan en solución 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.

35

La electroforesis de campos pulsantes

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 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, 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', 'cariotipos moleculares', 'cariotipos electroforéticos', etc.

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

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.

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, 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

35

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:

1. Se selecciona un polígono regular (cuadrado, rectángulo o hexágono) como contorno cerrado en cuyos lados será colocado un arreglo de electrodos para generar en el interior del polígono un campo eléctrico de valores homogéneos de intensidad.
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 V.
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 en los otros lados del polígono regular y a una distancia y_i del eje 'X' se aplica un potencial $V(y_i)$, donde $V(y_i) = V_0 \cdot y_i/A$.
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 formara un ángulo entre las líneas de fuerza de los campos eléctricos resultantes. Ese ángulo es denominado en ECP 'ángulo de reorientación'.
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° .

La configuración de electrodos en un arreglo hexagonal ha sido la utilizada en los sistemas actuales de ECP. Ese sistema se denominó 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 está limitado a los polígonos regulares descritos anteriormente.

Métodos para imponer los potenciales eléctricos 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 potenciales eléctricos impuestos en cada electrodo del sistema CHEF (Clark S.M., Lai E., Birren B.W., Hood L. *Science* 241, pp 1203-1205, 1988).

10

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
15 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
20 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_1 de los electrodos más electronegativos ($y=0$) deben poseer el mismo valor de potencial eléctrico dado por $V(y_1) = V_0 \cdot y_1/A$.

30 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.

35

Sin embargo, el uso de series de resistores para fijar los potenciales eléctricos 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 los electrodos y viceversa, cambian el valor del potencial en cada electrodo lo que afecta la homogeneidad del campo eléctrico. El cambio de potencial eléctrico 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 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.

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 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 potencial eléctrico 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 potencial eléctrico, $V(y_i) = V_o - y_i/A$, obtienen su potencial de nodos diferentes, por

lo que, no siempre se logran iguales potenciales eléctricos 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 del 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 potenciales eléctricos.
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 potenciales eléctricos impuestos en cada electrodo del sistema CHEF.

35

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 5,084,157). 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.

- 5 Es necesaria 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
10 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
15 resistencia eléctrica como

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

donde: (σ) es la conductividad del electrolito, (d) es la separación entre los
20 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
25 deformaciones 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
30 de la resistencia eléctrica en el tampón, no pueden garantizar patrones de bandas rectos y experimentos reproducibles. Esta situación se hace más crítica con cámaras más pequeñas.

ESENCIA DE LA INVENCION

35

La presente invención describe un circuito de imposición de potenciales eléctricos en los electrodos de cámaras de ECP del sistema CHEF. El número y la

disposición de los electrodos en la cámara no son únicos, sino que pueden variar. Sin embargo el principio constructivo del circuito es el mismo, solo varía el número de componentes electrónicas que lo forman. Para explicar adecuadamente el circuito propuesto en esta invención es necesario entonces definir un sistema de referencia. Tal sistema de referencia debe introducir la flexibilidad necesaria para describir el circuito y la forma en que este se conecta a las cámaras de ECP del sistema CHEF.

10

El sistema de referencia

Consideraremos un contorno cerrado de electrodos (de las cámaras de ECP del sistema CHEF) al conjunto de varios electrodos que se colocan en 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 en el eje 'X' de un plano 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'.

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

Todos los electrodos situados en los lados 'C' y 'D' se denominarán como E_{1C} , E_{2C} ,..., E_{nC} y E_{1D} , E_{2D} ,..., 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} ,..., E_{nC} , y electrodos E_{1D} , E_{2D} ,..., E_{nD} . Los dos electrodos E_{iC} y E_{iD} se colocan a la misma distancia y_i del eje 'X', donde i es un número natural entre 1 y n. Cada uno de esos ($[E_{1C}-E_{1D}]$, $[E_{2C}-E_{2D}]$,..., $[E_{nC}-E_{nD}]$) se denominará par de electrodos P_i .

35

El circuito conmutador de los campos eléctricos

La electroforesis de campos pulsantes logra separar las moléculas de ADN mayores a 20 000 pares de bases porque aplica campos eléctricos que alternan su dirección periódicamente. La energía eléctrica utilizada por los circuitos y equipos de ECP para generar tales campos eléctricos proviene usualmente de una
5 única fuente de poder. Por lo tanto se utilizan circuitos que apliquen la diferencia de potencial proveniente de los bornes positivo y negativo de la fuente de poder a nodos diferentes en las cámaras de ECP. Tal circuito se denominará aquí 'circuito conmutador' y no es objeto de invención de la presente patente.

10 En el caso de las cámaras de ECP sistema CHEF el circuito conmutador conecta la fuente de poder con el circuito de imposición de los potenciales eléctricos. En la figura 2 se muestra un ejemplo de circuito conmutador. El borne positivo de la fuente de poder se conecta al nodo HV+ y el borne negativo al nodo HV-. Los transistores 24, 26, 28 y 30 actúan como llaves que permiten o bloquean el paso
15 de la corriente eléctrica hacia los nodos de salida NA+, NA-, NB+ y NB-. La señal 10 (lógica TTL) puede provenir de una computadora u otro circuito y controla el paso de la corriente eléctrica desde HV+ y HV- hacia los nodos de salida. Cuando la señal 10 tiene valor lógico 1', se saturan los transistores 24 y 28. Entonces la corriente eléctrica puede pasar desde HV+ hacia el nodo NA+ y desde el nodo NA-
20 hacia HV. Las resistencias 32 y 34 y el transistor 36 invierten la señal lógica 10, en consecuencia los transistores 26 y 30 se cortan y la corriente eléctrica no puede circular desde HV+ hacia el nodo NB+ ni desde NB- hacia HV-. Cuando la señal 10 tiene valor lógico 0', el transistor 36 la invierte y se saturan los transistores 26 y 30. Entonces la corriente eléctrica puede pasar desde HV+ hacia el nodo NB+ y
25 desde el nodo NB- hacia HV. En esta situación los transistores 24 y 28 se cortan y la corriente eléctrica no puede circular desde HV+ hacia el nodo NA+ y desde NA- hacia HV-. Los circuitos de desacople óptico 12 aíslan la señal lógica 10 de la parte del circuito conmutador conectada a la fuente de poder, ellos son alimentados por fuentes independientes de voltaje 14 – 15, 16 – 17, 18 – 19 y 20 –
30 21.

El circuito de imposición de potenciales eléctricos descrito en esta invención se conecta a los nodos NA+, NA-, NB+ y NB- para generar campos eléctricos homogéneos en dos direcciones diferentes en el interior de las cámaras del
35 sistema CHEF.

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

103
164

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 potencial eléctrico dado entre 0 y V_0 volts que se obtiene de una fuente de poder de la siguiente forma.

1. A los 'k' electrodos colocados en el lado L_1 se le aplican 0 V.
2. A los 'k' electrodos colocados en el lado opuesto $L_{(m/2)+1}$ se le aplica un potencial eléctrico V_0 .

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_i aparece un potencial eléctrico dado que no es proporcional a la distancia y_i . Por lo que, en los electrodos restantes deben imponerse valores de potencial eléctrico 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 potencial eléctrico $V_i = V_0 \cdot y_i / A$.

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.

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 circuito conmutador de forma que solo uno de los circuitos de imposición reciba energía eléctrica a la vez.

Cada uno de esos circuitos impone en los electrodos los potenciales eléctricos 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 direcciones donde se aplicará el campo eléctrico se realizan de la siguiente forma:

21

164
165

- I. Uno de los bornes negativos del circuito conmutador se conecta a través de diodos a todos los 'k' electrodos del lado L_1 (lado colocado en el eje 'X'), mientras que el borne positivo correspondiente a ese borne negativo del circuito conmutador se conecta a través de diodos a los 'k' electrodos situados en 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 circuito conmutador 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 diodo,
 - b) los cátodos de esos diodos, uno por cada electrodo, se conectan entre si y al ánodo de un segundo diodo,
 - c) el cátodo de ese segundo diodo se une al borne negativo del circuito conmutador.
- III. La conexión a través de diodos entre el borne positivo del circuito conmutador y los 'k' electrodos del lado $L_{(m/2)+1}$ se realiza de la siguiente forma:
 - a) cada electrodo del lado $L_{(m/2)+1}$ del polígono regular se conecta al cátodo de un diodo,
 - b) los ánodos de esos diodos, uno por cada electrodo, se conectan entre si y al cátodo de un segundo diodo,
 - c) el ánodo de ese segundo diodo se une al borne positivo del circuito conmutador.
- IV. A los bornes negativo y positivo del circuito conmutador 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 la diferencia de potencial total (V_0-0) 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 potencial eléctrico de su entrada que procede del nodo N_i . La otra función es mantener constante ese potencial eléctrico frente a los cambios de conductividad del tampón durante la ECP.

Los repetidores de voltaje son de dos tipos:

22

165
166

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:

5 un transistor de polaridad NPN cuya base se conecta al nodo N_i del divisor de voltaje, su colector al borne positivo del circuito conmutador 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.

10 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:

15 un transistor de polaridad PNP cuya base se conecta al nodo N_i del divisor de voltaje, su colector al borne negativo del circuito conmutador 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.

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

25 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 en el eje 'X'. A partir de L_1 se redefinen los lados 'C' y 'D', los electrodos E_i y los pares de electrodos P_i

30 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 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
35 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 antiguas parejas de electrodos, que en ese momento unen electrodos de diferente potencial, tengan al menos un diodo polarizado inversamente. La

166
167

resistencia de éstos al paso de la corriente eléctrica es muy alta y los electrodos de esa rama quedan aislados eléctricamente.

La influencia que los cambios de conductividad de la solución tampón introducen en el potencial de cada nodo N_i del divisor se reduce inyectando o extrayendo corriente del electrodo hasta que su potencial eléctrico 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 más 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 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.

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.

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 V.

El cambio de polaridad de los transistores y los diodos que ocurre en el centro del divisor introduce un error en el patrón de potenciales eléctricos. 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 sentido contrario al efecto de las caídas en los transistores y diodos de cada pareja.

35

Finalmente es necesario añadir un diodo en serie con los diodos que polarizan los electrodos situados en los lados L_1 y $L_{(m/2)+1}$ y que se conectan a los bornes negativo y positivo del circuito conmutador. Esto es necesario para homogeneizar

24

el número de caídas de voltaje (provocadas por uniones PN directamente polarizadas) en el camino entre los bornes del circuito conmutador y cada uno de los electrodos. Este camino para los electrodos situados en los lados 'C' y 'D' presenta dos uniones PN.

5

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.

10

168
169.**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 3 se muestra un grupo de electrodos 101 al 118 dispuestos en forma de 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 potencial eléctrico, 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 potencial eléctrico, el que será proporcional a la distancia desde cada pareja hasta los electrodos del grupo B-.

25

30

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.

35

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

26

169
170

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

Las filas muestran el número de los electrodos que deben polarizarse al mismo potencial eléctrico 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.

5

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 4). 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.

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

En la Figura 5 se muestran con más detalles los repetidores de voltaje 205 y 206. 20 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.

25

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

27

171

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 6) 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 4) 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 potenciales eléctricos teóricos y medidos en los electrodos de una cubeta CHEF. Los electrodos están dispuestos en los lados de un hexágono como el de la Figura 3. 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 mmol/l, Acido bórico 89 mmol/l, EDTA 2 mmol/l, pH 8,4) a 20 °C. Los potenciales eléctricos se generaron con un circuito similar al presentado. Los resistores utilizados fueron de 470,0 Ω, 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 una diferencia de potencial 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 en los lados de un hexágono.

Potenciales eléctricos teóricos (V)	Potenciales eléctricos reales (V)	
	Dirección A	Dirección B

172

118,6	101, 102 y 103: 118,7	115, 114 y 113: 118,7		
108,8	118:108,8	104:108,9	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	106: 69,7	118: 69,7	110: 69,6
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 3, aparece en negrita.

El potencial eléctrico teórico se calculó considerando una caída típica de 0,7 V 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 cálculo 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 7 se muestra un grupo de electrodos puntuales 501 al 536 dispuestos en un contorno hexagonal 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 V. El resto de los electrodos se organizan en parejas (Tabla III). Ambos electrodos de cada pareja serán polarizados al mismo potencial eléctrico, 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 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 V. El resto de los electrodos se organizan en parejas (Tabla III). Ambos electrodos de cada pareja serán polarizados al mismo potencial eléctrico, el que será proporcional a la distancia desde cada pareja hasta los electrodos del grupo B-.

29

#2
173

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.

5

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 8). Los valores de resistencia de los resistores 601, 602 y 603 deben ser escogidos de forma tal que el potencial entre de electrodo sea proporcional a la distancia 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 Ω los resistores 602 son de 470 Ω y los resistores 603 son de 235 Ω . 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 voltajes genera los potenciales de referencia que aparecen en los nodos 604 y 605. Los repetidores de voltaje 606 y 607 toman el potencial eléctrico 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 4). Se introducen diodos 608 en serie con los resistores para corregir los errores en el patrón de potenciales eléctricos 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 9) en un circuito similar al presentado en el ejemplo 1. En este caso se utilizan seis 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 caídas de voltaje.

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

Potenciales eléctricos Teóricos (V)	Potenciales eléctricos reales (V)			
	Dirección A		Dirección B	
118,80	501,502,503,504,505,506:118,75		525,526,527,528,529,530:118,75	
113,18	536:113,15	507:113,15	524:113,15	531:113,15

30

178
179

104,85	535:104,70	508:104,70	523:104,75	532:104,75
93,62	534:93,40	509: 93,40	522:93,40	533: 93,40
85,28	533:85,05	510: 85,05	521:85,00	534: 85,00
74,05	532:73,90	511: 73,85	520:73,85	535: 73,85
65,72	531:65,65	512: 65,55	519:65,55	536: 65,65
54,48	530:54,40	513: 54,30	518:54,30	501: 54,40
46,15	529:46,15	514: 46,15	517:46,10	502: 46,10
34,92	528:34,90	515: 34,95	516:34,95	503: 34,95
26,58	527:26,60	516: 26,60	515:26,60	504: 26,55
15,35	526:15,35	517: 15,35	514:15,35	505: 15,35
7,02	525:6,95	518: 6,95	513:6,95	506: 6,95
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 potencial eléctrico 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 le corresponde a cada pareja de electrodos. El número del electrodo, según la Figura 7, aparece en negrita. El potencial eléctrico teórico se calculó con las mismas consideraciones que en el ejemplo 1.

En la Tabla III se presentan los potenciales eléctricos teóricos y medidos en los electrodos de una cubeta CHEF. Los electrodos están dispuestos en los lados de un hexágono como el de la Figura 7. 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 mmol/l, Acido bórico 89 mmol/l, EDTA 2 mmol/l, pH 8,4) a 20 °C. Los potenciales eléctricos se generaron con un circuito similar al presentado. La energía se obtuvo de una fuente de poder Macrodrive I cuya salida se ajustó a una diferencia de potencial constante de 120,2 V entre los 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 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.

31

Se adjuntan las siguientes figuras:

Figura 1. Sistema de referencia utilizado para describir la distribución de los
5 electrodos en las cámaras de ECP sistema CHEF que pueden ser polarizadas por
el circuito de la presente invención. La distribución de los electrodos forma 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
10 '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. Circuito conmutador. Los símbolos HV+ y HV- son lo nodos que se
15 conectan a los bornes positivo y negativo de la fuente de poder. Los nodos A+, A-,
B+ y B- son las salidas del circuito conmutador y a ellos se conecta el circuito de
imposición de potenciales eléctricos.

Figura 3. Esquema de la distribución de los 18 electrodos de una cubeta CHEF
20 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
conmutador) 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 conmutador) para
25 establecer un campo eléctrico en la dirección B.

Figura 4. Divisor de voltaje formado por diodos y resistores que se conecta a los
bornes de una fuente de poder (a través de un circuito conmutador). Este circuito
genera los potenciales eléctricos que polarizan una parte de los electrodos de una
30 cubeta CHEF hexagonal de 18 electrodos. A los nodos que se forman entre dos
resistores se conectan repetidores de voltaje.

Figura 5. 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
35 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 conmutador). En la parte inferior se encuentra un repetidor de voltaje con

HRS
FVG

un transistor PNP cuyo colector se conecta al borne negativo de una fuente de poder (a través de un circuito conmutador).

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 7. 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 conmutador) 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 conmutador) para establecer un campo eléctrico en la dirección B.

Figura 8. Divisor de voltaje formado por diodos y resistores que se conecta a los bornes de una fuente de poder (a través de un circuito conmutador). Este circuito genera los potenciales eléctricos 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 repetidores de voltaje.

Figura 9. 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.

196
177

- 1) Se polarizan correctamente los electrodos de cubetas tipo CHEF de diferente forma, tamaño, número y distribución de electrodos.
- 2) El circuito es más sencillo que los sistemas de imposición de potenciales eléctricos anteriores, sin embargo el patrón de potenciales eléctricos 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.
- 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 sistemas anteriores.
- 7) El circuito es más económico y es más fácil su reparación y mantenimiento.

178

REVINDICACIONES

1. Circuito de imposición de potenciales eléctricos en los electrodos de las
 5 cámaras del sistema CHEF de Electroforesis de Campos Pulsantes/el cual
 requiere de una fuente de poder con un borne negativo y otro positivo, de otro
 circuito conmutador que posee dos bornes positivo y dos bornes negativos y
 una cámara de electroforesis que contiene solución tampón, cámara que posee
 un arreglo de electrodos que se colocan en los 'm' lados de un polígono
 10 regular 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 $L_{(m/2+1)}$
 15 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,
- 20 • está formado por partes idénticas conectadas a los bornes positivo y
 negativo de la fuente de poder a través del circuito conmutador y ambas
 partes se conectan al mismo arreglo de electrodos colocados en los lados
 del polígono regular, pero el lado seleccionado como lado L_1 para la
 conexión de la primera parte es diferente del lado L_1 seleccionado para la
 25 conexión de la segunda parte y cada parte está formada por:
 - diodos conectados entre los electrodos colocados en el lados L_1 del
 polígono y el borne negativo de la fuente de poder a través del circuito
 conmutador
 - 30 • diodos conectados entre los electrodos colocados en el lado $L_{(m/2+1)}$ del
 polígono y el borne positivo de la fuente de poder a través del circuito
 conmutador
 - 35 • un divisor de voltaje formado por resistores y diodos y conectado entre los
 bornes positivo y negativo de la fuente de poder a través del circuito
 conmutador

35

178
179

- repetidores de voltaje que se conectan entre los nodos de dicho divisor de voltaje y los electrodos ($E_{IC}-E_{ID}$) de cada par de electrodo de P_i y cada repetidor está formado por un solo transistor y una pareja de diodos.

5

2. Circuito conforme a la reivindicación precedente No 1 caracterizado porque ambas partes se conectan a los bornes positivo y negativo de la fuente de poder a través del circuito conmutador pero solo una de las dos partes recibe energía eléctrica al mismo tiempo.

10

3. Circuito conforme a la reivindicación precedente No 1 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 al borne negativo de la fuente de poder a través del circuito conmutador.

15

4. Circuito conforme a la reivindicación precedente No 1 caracterizado porque cada electrodo colocado en 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 al borne positivo de la fuente de poder a través del circuito conmutador.

20

5. Circuito conforme a la reivindicación precedente No 1 caracterizado porque dicho divisor de voltaje esta formado por ' $n+1$ ' resistencias R_i y hasta 10 diodos, donde ' n ' es igual a $k \cdot (m-2)/2$.

25

6. Circuito conforme a la reivindicación precedente No 1. caracterizado porque el transistor de cada repetidor de voltaje está en configuración de seguidor de emisor, su base está conectada a uno de los nodos del divisor de voltaje, su emisor al par de electrodos P_i respectivo a través de una pareja de diodos, transistor que es de tipo PNP con su colector conectado al borne negativo de la fuente de poder cuando ' i ' es un número natural entre 1 y $n/2$ y es de tipo NPN con su colector conectado al borne positivo de la fuente de poder cuando ' i ' es un número natural entre $[(n/2)+1]$ y n .

30

35

7. Circuito conforme a la reivindicación precedente No 1 caracterizado porque en cada repetidor de voltaje los cátodos de la pareja de diodos están conectados al emisor del transistor y sus respectivos ánodos están conectados a los dos

36

179
180

electrodos del par de electrodos P_i , cuando 'i' es un número natural entre 1 y $n/2$.

- 5 8. Circuito conforme a la reivindicación precedente No 1 caracterizado porque en cada repetidor de voltaje los ánodos de la pareja de diodos están conectados al emisor del transistor 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 9. Circuito conforme a la reivindicación precedente No 1 el cual requiere de una cámara de electroforesis que posee un arreglo de electrodos colocados en los 'm' lados de un polígono regular 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.

15

37

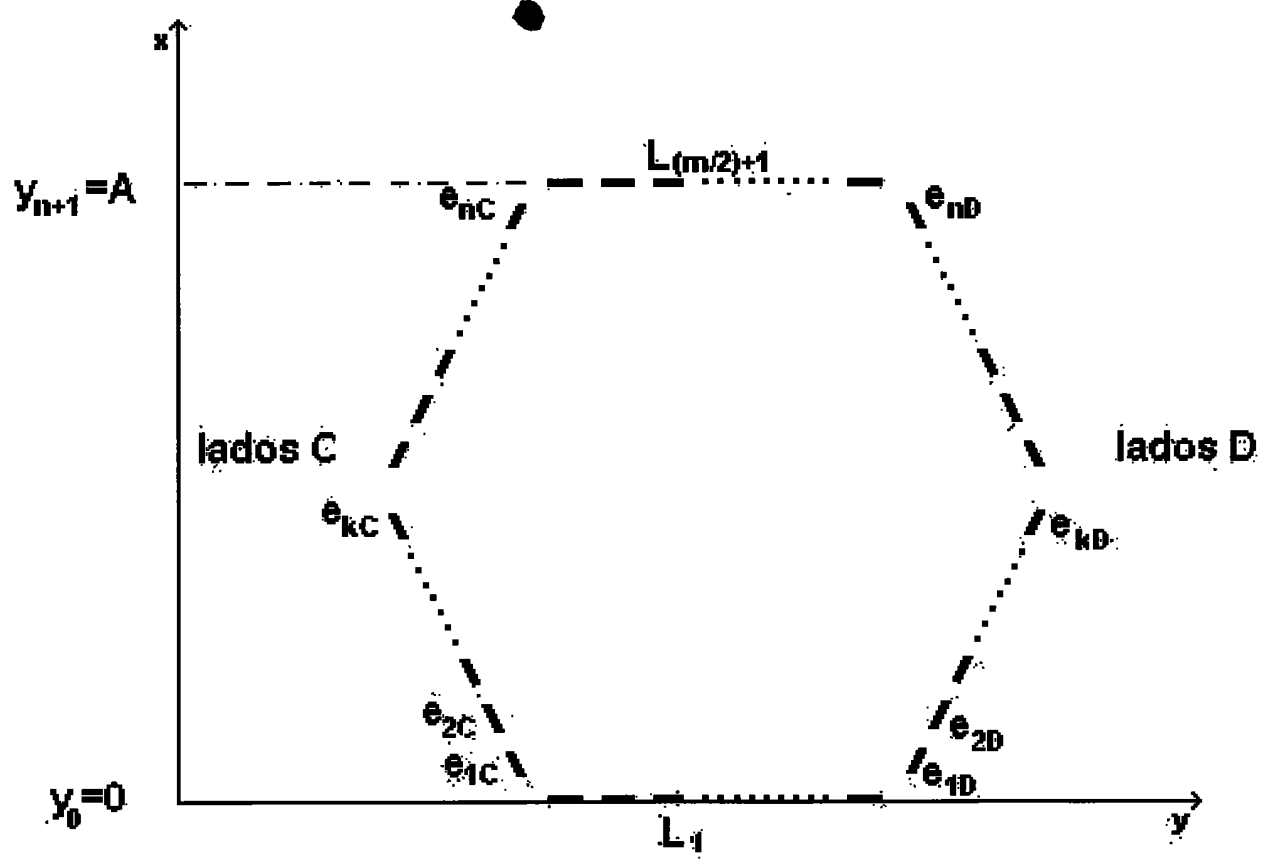


Figura 1

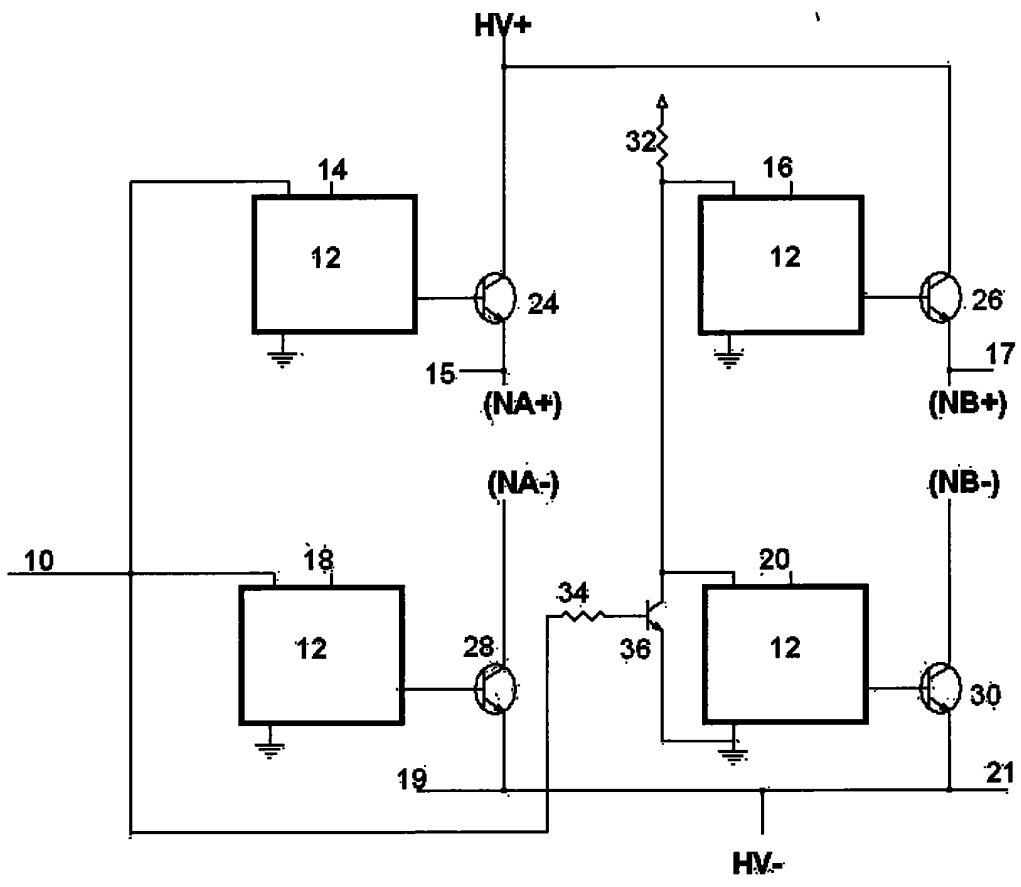


Figura 2

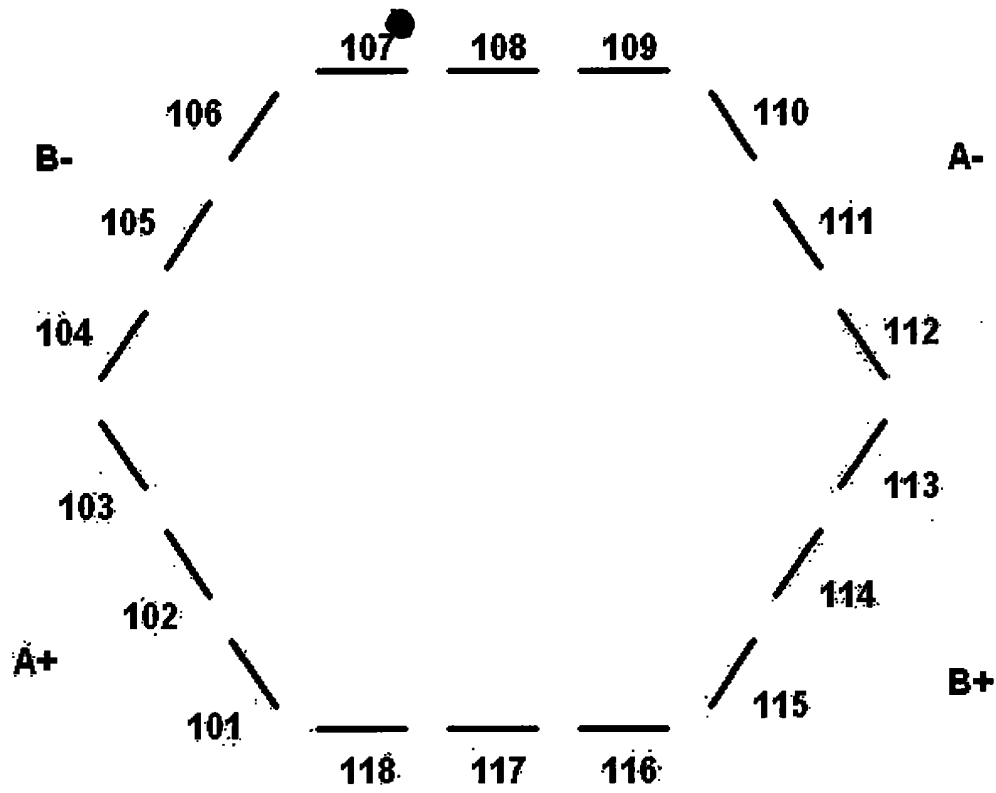


Figura 3

78

17

183
184

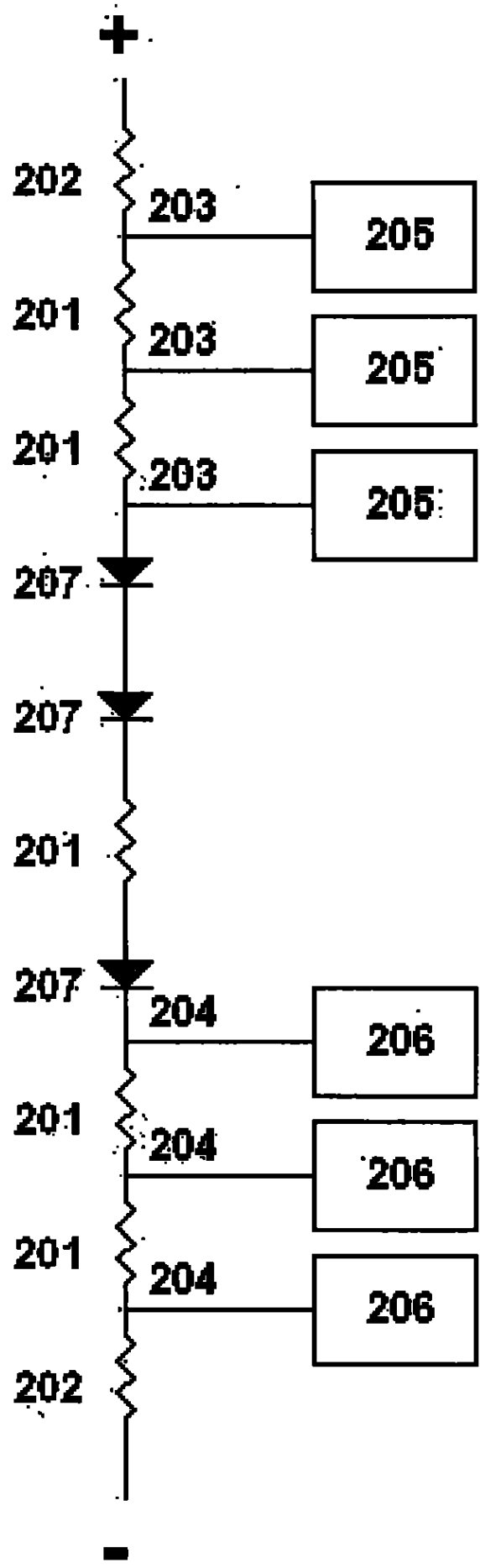


Figura 4

27

184
185

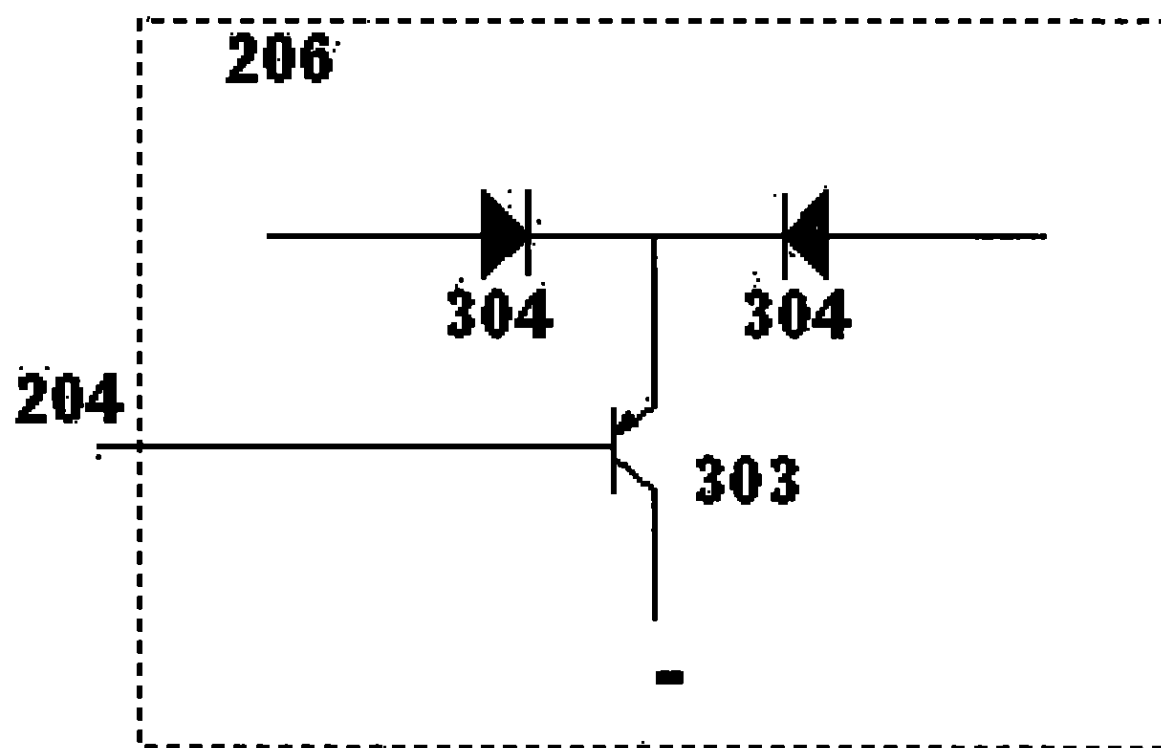
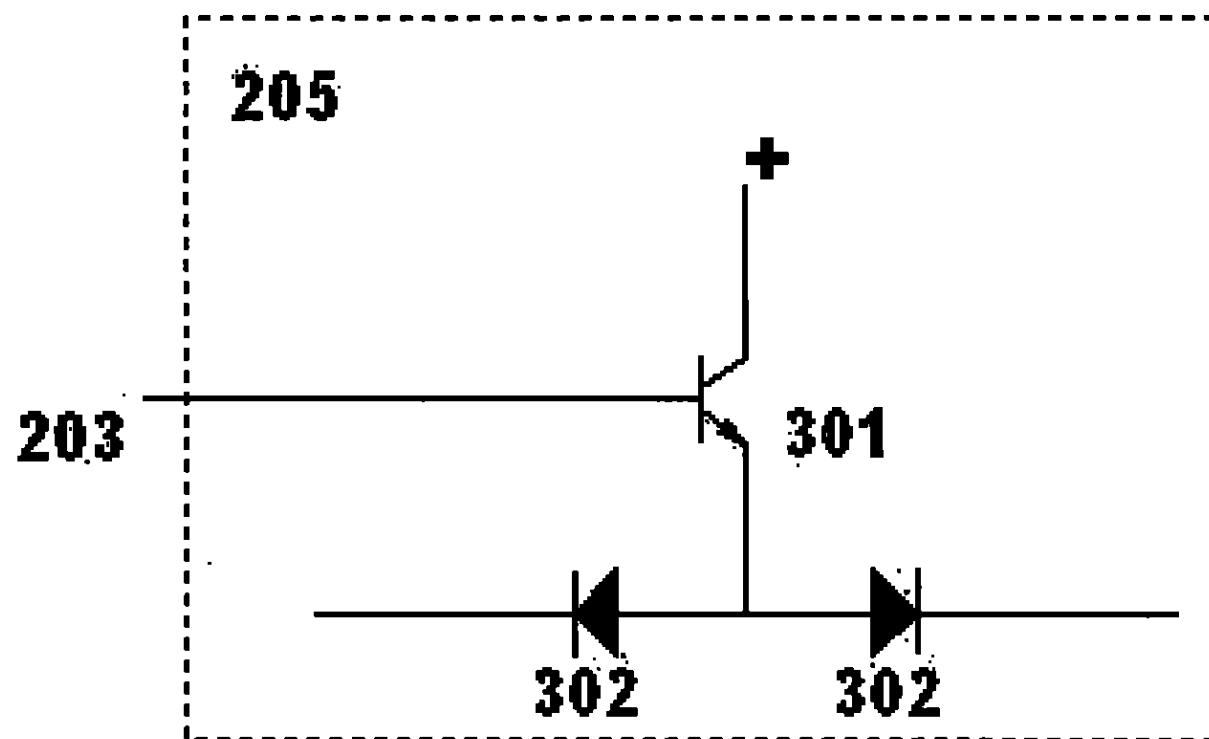


Figura 5

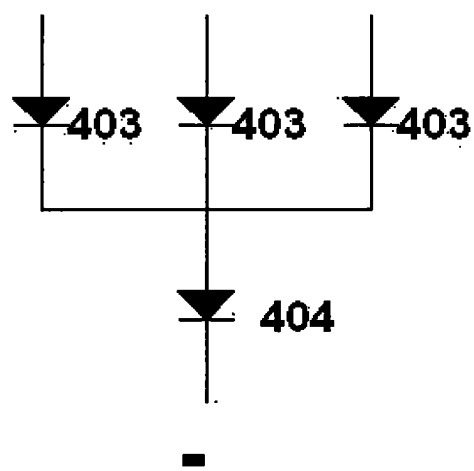
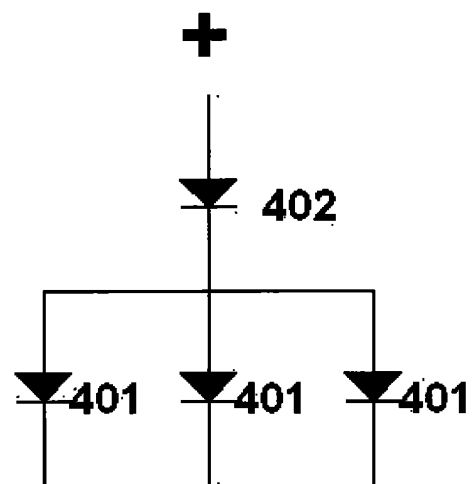


Figura 6

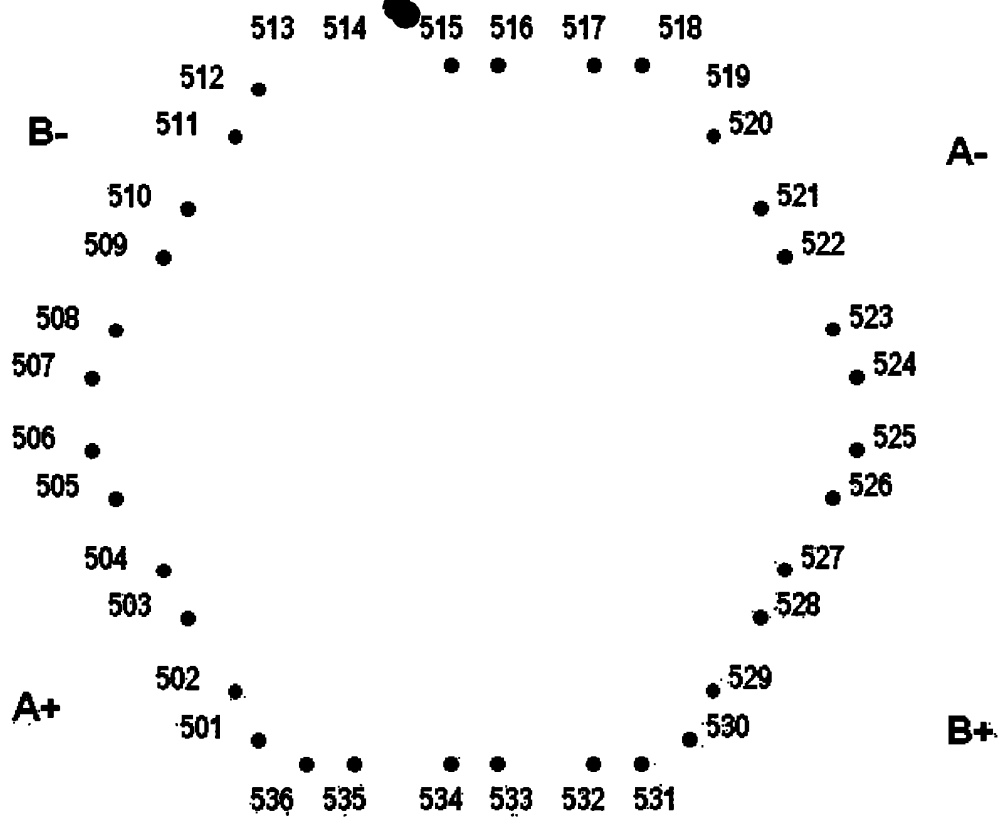


Figura 7

57

187
188

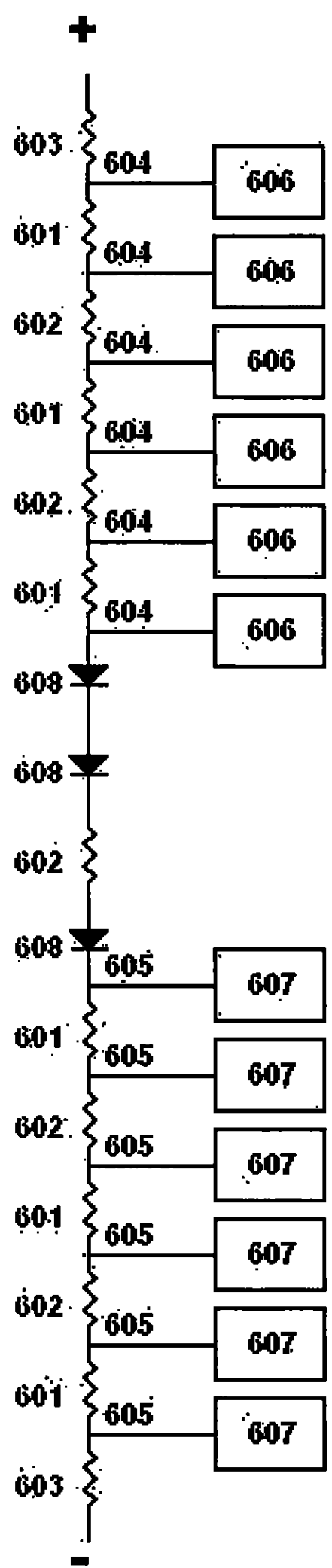


Figura 8.

9b

188
189.

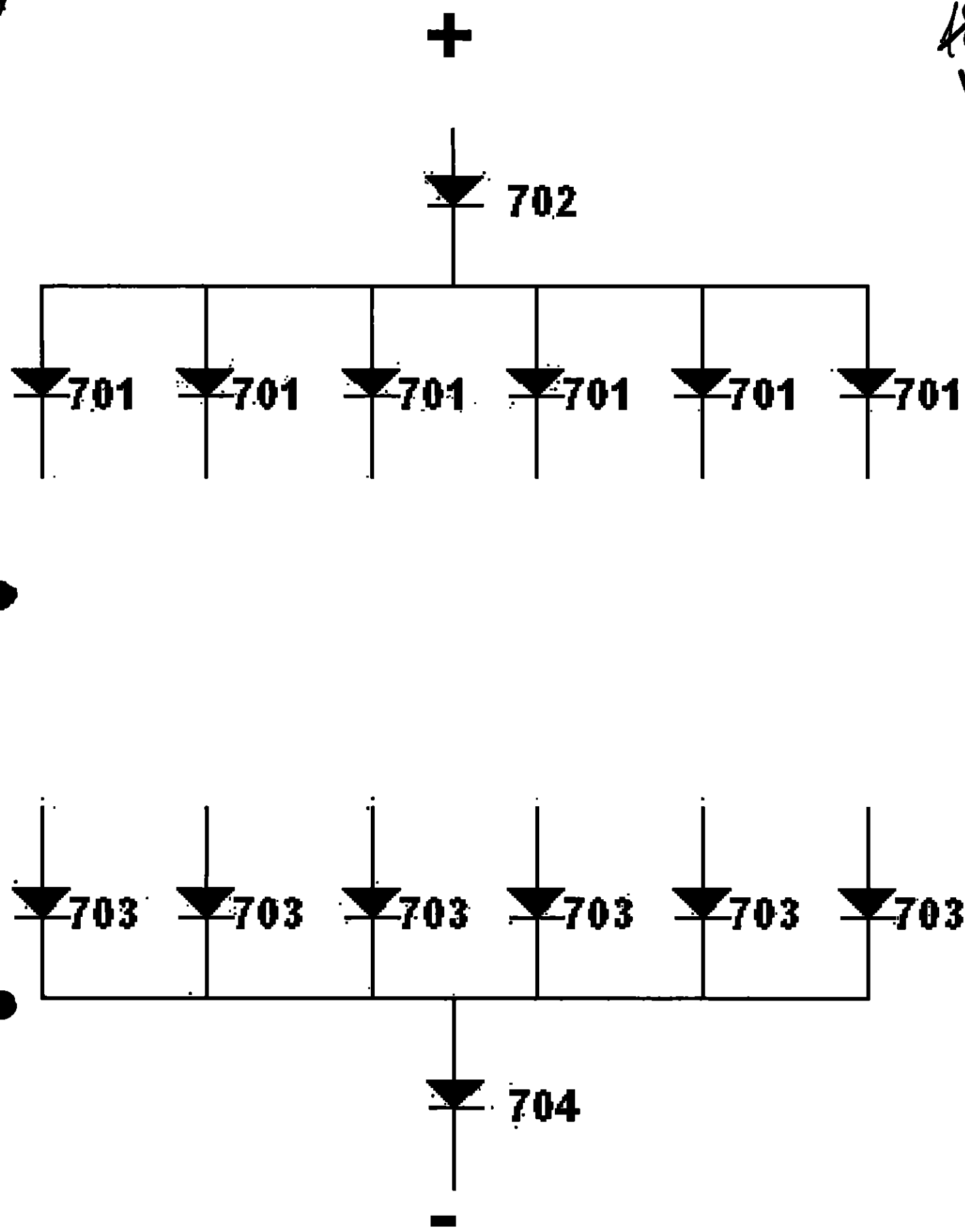


Figura 9

189
190

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 32,479
FECHA : ABRIL 23 DE 2007

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 03-107321-00008-0000

Fecha: 2007-04-24 14:49:23 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALI
Act. 444 RESPUESTAREQUE Folios: 48

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
ALVARO CASTELLANOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	63071327	23/04/2007	5,729,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-03	CAMBIO DE MODALIDAD Y MODIFICA	
		12 MARCAS Y LENAS COMERCIALES	99,000.00
		TOTAL :	\$ 99,000.00

SOM: NOVENTA Y NUEVE MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

12

EUROPEAN PATENT APPLICATION

Application number: 89308464.0

Int. Cl.⁴: G 01 N 27/26

Date of filing: 21.08.89

Priority: 23.08.88 US 236296

Date of publication of application:
 28.02.90 Bulletin 90/09

Designated Contracting States:
 AT BE CH DE ES FR GB GR IT LI LU NL SE

Applicant: THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND
 STANFORD JUNIOR UNIVERSITY
 Stanford University
 Stanford California 94305 (US)

Inventor: Chu, Gilbert
 3416 Cork Oak Way
 Palo Alto California 94303 (US)

Vollbrecht, Douglas
 88 Church Street, Apt. 1
 Mountain View California 94041 (US)

Davis, Ron
 433 Kingsley
 Palo Alto California 94301 (US)

Representative: Harrison, David Christopher et al
 MEWBURN ELLIS 2 Curator Street
 London EC4A 1BQ (GB)

A1 Electrophoresis using contour-clamped electric fields.

A gel electrophoresis method and apparatus is described in which the shape and orientation of the electric field is controlled by contour clamping. Electrodes are arranged around a closed contour. Two or more electrodes, the driving electrodes, are clamped at a potential difference ϕ_0 to establish the general orientation and strength of the electric field. The remaining electrodes are clamped to intermediate potentials to control the shape of the field established by the driving electrodes. The field is varied in accordance with the purpose of the electrophoresis, depending upon the size of the particles and the information to be determined concerning the particles.

EP 0 356 187 A2

[34] PULSED FIELD GEL ELECTROPHORESIS
OF LARGE DNA

[75] Inventor: Robert W. Allington, Lincoln, Nebr.

[73] Assignee: Iseo, Inc., Lincoln, Nebr.

[21] Appl. No.: 348,679

[22] Filed: May 3, 1989

[51] Int. Cl.⁵ G01N 27/26; B01D 57/02

[52] U.S. Cl. 204/182.8; 204/299 R

[58] Field of Search 264/299 R, 182.8

[36] References Cited

FOREIGN PATENT DOCUMENTS

399107 1/1990 European Pat. Off. 204/299 R

2605472 4/1988 France 204/299 R

8700635 1/1987 PCT Int'l Appl. 204/299 R

OTHER PUBLICATIONS

Steven M. Clark et al. "Novel Instrument for Separating Large DNA Molecules with Pulsed Homogeneous Electric Fields" *Science*, 241: 1203-1205 (1988).

Chantal Turler, "Molecular detrapping and band narrowing with high frequency modulation of pulsed field electrophoresis" *Nucleic Acids Research*, 18(3) [1990] 569-575.

Gilles Roy et al. "Inexpensive and simple set-up for field inversion gel electrophoresis" *Nucleic Acids Research* 16(3) [1988] 768.

C. D. Porter et al., "BBC microcomputer controlled

field inversion gel electrophoresis" *Computer applications in the biosciences-CABIOS*, 4(2) [1988] 271-273.

Primary Examiner—John Niebling

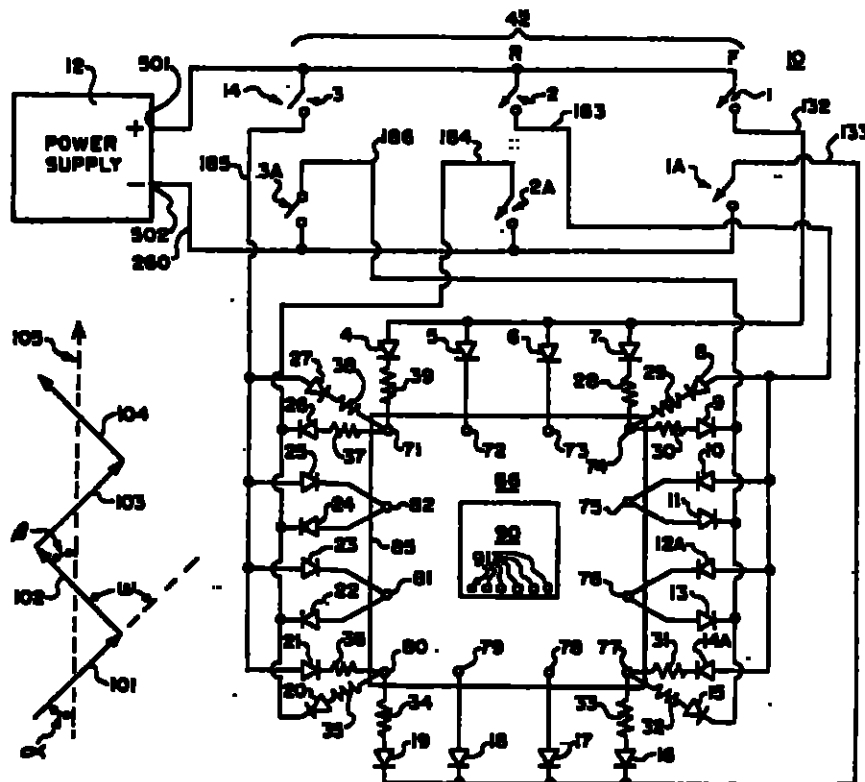
Assistant Examiner—John S. Starsiak, Jr.

Attorney, Agent, or Firm—Vincent L. Carney

[57] ABSTRACT

An electrophoresis apparatus 10 has a power supply 12, an electrophoresis gel system including the tank 85 and an adjustable switching means 42 connected together for controlling the electric field force, electric field angle and the pulse duration to resolve DNA molecules greater than 1,000 kb in length along straight, unbent lanes within a gel. The electrophoresis system 10 permits adjustment of the pulse durations through a range from generally one-tenth of a second to shorter ranges. It permits the adjustability of the electric field force, electric field angle and the pulse duration so that it may have: (1) pulse durations in a range that maintains the pulse durations shorter than one-tenth of a second; (2) an angle or angles of two fields up to 180 degrees with respect to each other; (3) a side range of intensities of the fields; and (4) any number of repetitions of pulses of the fields before changing the angle of the two fields with respect to each other.

22 Claims, 4 Drawing Sheets



**SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES**

Radicación No. 03-107321

Clasificación Internacional (IPC): G01N 27/447

Concepto Técnico No. 1143

Como resultado del examen definitivo, realizado con fundamento en el artículo 48 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica:

1. Documentos estudiados

- 1.1. Descripción: Folios 154 a 176 modificada
- 1.2. Reivindicaciones: 1 a 9 Folios 177 a 179 del pliego modificado
- 1.3. Dibujos: Folios 180 a 188 modificados
- 1.4. Rta. del Solicitante: Folios: 144 a 152

2. Objeto de la invención

La presente solicitud se titula: 'CIRCUITO DE IMPOSICIÓN DE POTENCIALES ELÉCTRICOS EN LOS ELECTRODOS DE LAS CUBETAS DEL SISTEMA CHEF DE ELECTROFORESIS DE CAMPOS PULSANTES', folio 153.

El objeto de la presente solicitud de patente consiste en un circuito para el control del potencial eléctrico de los electrodos de las cubetas del sistema de campos eléctricos homogéneos fijados en el contorno (CHEF) de electroforesis.

De otra parte, el pliego reclama un circuito de imposición de potenciales eléctricos en los electrodos de las cámaras del sistema CHEF de electroforesis de campos pulsantes, relacionado en las reivindicaciones 1 a 9.

El objeto de la solicitud definido anteriormente se clasificó en la IPC G01N 27/447

3. De la solicitud de Patente

3.1. Descripción (artículo 28 D. 486)

Realizadas las modificaciones al capítulo descriptivo, se encuentra que la descripción divulga de manera clara y completa la forma de ejecutar la invención conforme al Art. 28 D. 486.

3.2. Reivindicaciones (artículo 30 D 486)

La reivindicaciones presentadas en el capítulo modificado definen la materia que se desea proteger de forma clara y concisa y están enteramente sustentadas por la descripción conforme al Art. 30 D. 486.

4. Unidad de invención (artículo 25 D 486)

Se considera que el pliego estudiado comprende solamente una invención, en consecuencia, cumple el requisito de unidad de invención.

5. Determinación del Estado de la Técnica

Considerando que la fecha de presentación internacional de la solicitud PCT que reivindica prioridad a la fecha 08/06/2001, se buscaron documentos del estado de la técnica relacionados, con fecha de publicación anterior a esta. Se realizó búsqueda de documentos relevantes dentro del estado de la técnica, entendiendo como estado de la técnica la definición provista en el Art. 16 D 486, y las excepciones fijadas en el Art. 17 de la misma.

Consultadas las fuentes de información con que cuenta esta oficina, se hallaron los siguientes documentos que hacen parte del estado de la técnica más cercano al objeto de la presente solicitud:

N°	Documento*	Título	Fecha de publicación
D1	EP0356187	ELECTROPHORESIS USING CONTOUR-CLAMPED ELECTRIC FIELDS	1990-02-28
D2	US005135628	PULSED FIELD GEL ELECTROPHORESIS OF LARGE DNA	1992-08-04

*se anexa copia de la primera página de cada documento citado

6. Análisis de patentabilidad

6.1. Novedad (artículo 16 D486)

El requisito de novedad se evaluó por comparación entre lo solicitado y los documentos encontrados en el estado de la técnica y que se relacionan con el objeto reivindicado

La presente Solicitud de Patente se refiere a un circuito de imposición de potenciales eléctricos en los electrodos de las cámaras del sistema CHEF, caracterizado porque:

- Requiere de una cámara de electroforesis que posee un arreglo de electrodos, el cual forma un polígono regular.
- Está conectado a los bornes positivo y negativo de una fuente a través de un circuito conmutador.
- Tiene diodos conectados entre los bornes de la fuente y los lados L_1 y $L_{(n/2+1)}$ del polígono que forman los electrodos.
- Tiene un divisor de voltaje formado por resistencias y diodos conectado entre los bornes positivo y negativo de la fuente a través de un circuito conmutador.
- Tiene un repetidor de voltaje conectado entre los nodos del divisor de voltaje y los electrodos, el cual está formado por un transistor y una pareja de diodos, donde el transistor esta en configuración de seguidor por emisor.

De acuerdo al estado de la técnica establecido en el numeral 6, el documento más cercano a la solicitud es el documento EP0356187 (mencionado en adelante como documento D1).

Comparando las características reivindicadas de esta invención con el documento más cercano hallado podemos decir:

El documento D1 se relaciona con un procedimiento y un aparato para controlar la migración de partículas, manipulando la forma y la orientación del campo eléctrico producido por electrodos dentro de una cámara de electroforesis. Este aparato incluye una fuente conmutadora (pág. 4 línea 65, figs. 3, 10, 11B y 13, reivindicaciones 6 y 7), electrodos que definen contornos poligonales (pág. 4 línea 4, figs. 1 y 2, reivindicaciones 1, 2 y 10), diodos conectados entre los electrodos y la fuente de alimentación a través del circuito conmutador (pág. 7 desde la línea 28, fig.10), un divisor de voltaje resistivo (págs. 3, 4 y 7 línea 46, figs. 1, 2, 10 y 11B, reivindicación 1) y circuitos buffer entre los electrodos y el circuito de excitación (pág. 7 desde la línea 46, figs. 11B y 14, reivindicaciones 4, 5, 13 y 14) conformados por transistores en configuración push-pull.

Los componentes electrónicos y la disposición de los elementos dentro del circuito de imposición presentan una clara diferencia entre la presente solicitud y la anterioridad D1.

Realizada la comparación del documento D1 con la solicitud de patente, se observa que dicho documento no contiene las características de la solicitud en estudio; por lo tanto, el objeto de la solicitud es un elemento novedoso y permite afirmar que cumple con lo estipulado en el Art. 16 D 486.

6.2. Nivel inventivo (artículo 18 D486)

La presente invención está contenida en un capítulo reivindicatorio que incluye una reivindicación independiente y ocho que dependen de ella. De acuerdo al estado de la técnica establecido en el numeral 6, los documentos más cercanos a la solicitud son los siguientes: EP0356187 (D1) y US005135628 (D2).

El problema técnico planteado en esta solicitud: obtención de campos pulsantes homogéneos en cámaras de electroforesis, no se habría podido resolver por medio de uno de los documentos del estado del arte o la combinación de estos, por lo cual se considera que el circuito de imposición de potenciales eléctricos reclamado en la reivindicación 1 de la solicitud, no es obvio para una persona del oficio normalmente versada en la materia, ni se deriva de manera evidente del estado de la técnica. Con esto se concluye que cumple el requisito de nivel inventivo estipulado en el Art. 18 D 486.

6.3. Aplicación industrial (artículo 19 D 486)

El objeto de la presente solicitud cumple con el requisito de Aplicación Industrial.

7. Conclusión:

En consecuencia y por todo lo expuesto anteriormente, se recomienda **Conceder** las reivindicaciones: 1 a 9 (folios: 177 a 179).

Bogotá, D.C., 27 de julio de 2007

ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de División de Nuevas Creaciones

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

CONCEPTO TECNICO No. 1143	EXAMINADOR TECNICO Código No. 202082
----------------------------------	--