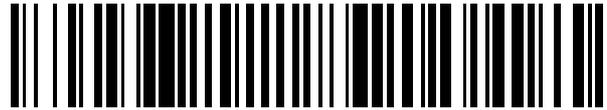


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 402 092**

51 Int. Cl.:

G01N 27/447 (2006.01)

G01N 27/453 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.09.2003 E 03749588 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.01.2013 EP 1537412**

54 Título: **Sistema automatizado para separaciones electroforéticas de alta capacidad de producción**

30 Prioridad:

11.09.2002 US 409797 P

24.01.2003 US 442635 P

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

26.04.2013

73 Titular/es:

**TEMPLE UNIVERSITY - OF THE
COMMONWEALTH SYSTEM OF HIGHER
EDUCATION (100.0%)
BROAD STREET AND MONTGOMERY AVENUE
PHILADELPHIA, PA 19122, US**

72 Inventor/es:

GONCALVES, ANTONIO, M.

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 402 092 T3

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

DESCRIPCIÓN

Sistema automatizado para separaciones electroforéticas de alta capacidad de producción.

Antecedentes de la invención

5 La electroforesis con gel es ampliamente utilizada para separar mezclas complejas de especies moleculares, en particular, proteínas, ácidos nucleicos, ADN. Existen principalmente dos métodos para llevar a cabo un procedimiento electroforético: en una dimensión, o unidimensionalmente, y en dos dimensiones, o bidimensionalmente. En su forma más simple, la electroforesis con gel en una dimensión ("1D") implica, por lo común: (1) colocar la(s) muestra(s) que se ha(n) de separar a lo largo de, o cerca de, uno de los bordes de una losa o placa de gel de separación (al que se hace referencia en lo que sigue de la presente memoria simplemente como un "gel"), lo que hace que una solución tampón o amortiguadora electroforética contenida en un pozo o depósito entre en contacto con el borde donde están situadas las muestras, y hace que una solución amortiguadora electroforética contenida en un segundo pozo entre en contacto con el borde opuesto del gel, y (3) aplicar una diferencia de tensiones eléctricas (a la que se hace referencia en lo sucesivo de esta memoria como una "tensión") a los electrodos inmersos en cada pozo. La aplicación de la tensión hace que se establezca un campo eléctrico en el seno del gel. El campo eléctrico, a su vez, provoca que la especie molecular de cada muestra migre en el seno del gel en diferentes velocidades. La velocidad de migración se determina basándose en la forma molecular y/o la carga de la especie molecular, así como en el tipo de gel y de la solución amortiguadora. Una vez que se ha completado la migración, puede llevarse a cabo una etapa de pigmentación en la que las especies moleculares, separadas, son vertidas de manera que impregnan una membrana de fluoruro de polivinilideno ("PVDF" –"polyvinylidene fluoride") (una membrana de nilón, en el caso de ácidos nucleicos) y son entonces reveladas por manchado con un pigmento.

10 En los últimos años, el procedimiento implicado en la realización de la electroforesis con gel ha sido simplificado considerablemente a través del uso de geles previamente colados disponibles comercialmente. Antes de esto, los geles se fabricaban según se necesitaban en los laboratorios de ensayo. Puesto que los geles son, por lo común, muy frágiles, es necesario proteger los geles durante su transporte desde el fabricante hasta el laboratorio de ensayo, así como durante su almacenamiento. Muchos de los geles previamente colocados de que se dispone en el mercado se venden emparedados entre placas protectoras de plástico o de vidrio rígidas, en tanto que algunos de ellos tienen simplemente un respaldo o base de plástico flexible y son almacenados dentro de bolsas cerradas al vacío. Existen también algunos fabricantes que suministran geles en cajetas. En el campo de la electroforesis con gel, el término "cajeta" se refiere generalmente a una estructura rígida que tiene un gel situado en su interior. Tales cajetas no solo actúan protegiendo el gel, sino que también proporcionan un mecanismo cómodo para transportar el gel antes, durante y después del procedimiento de electroforesis.

15 Las etapas descritas anteriormente para llevar a efecto el procedimiento de electroforesis pueden llevarse a cabo ya sea en la dirección vertical, ya sea en la dirección horizontal. En la electroforesis con gel vertical, el gel se coloca, por lo común, dentro de una cajeta que está abierta por sus dos extremos. Cada extremo se encuentra en comunicación de fluido con un pozo diferente que contiene una solución tampón o amortiguadora. Uno de los pozos está situado, por lo común, por encima de la cajeta, y el otro, por debajo. La cajeta sirve, con frecuencia, al menos como parte de una de las paredes del pozo de solución amortiguadora superior. Las cajetas que se emplean, por lo común, en los procedimientos de electroforesis vertical contienen únicamente el gel (es decir, no tienen soluciones amortiguadoras ni electrodos). De esta forma, se necesitan pozos separados en la electroforesis con gel vertical para proporcionar la fuente para la solución amortiguadora, así como los electrodos para proporcionar la tensión. Las Patentes de los EE.UU. Nos. 5.736.022 y 6.027.628 describen cajetas convencionales para uso en la electroforesis con gel vertical.

20 La disipación del calor constituye un problema principal durante la electroforesis con gel. A medida que la corriente eléctrica pasa a través del gel, la solución amortiguadora y el gel comienzan a calentarse. Conforme aumenta el calor, este tiene un efecto perjudicial sobre el gel. Si el calor no es disipado, el gel comenzará a descomponerse. De acuerdo con ello, se han invertido grandes esfuerzos en los últimos años en desarrollar sistemas de refrigeración que disipen el calor generado durante el procedimiento.

25 La Patente de los EE.UU. Nº 5.888.369 describe la incorporación de un intercambiador de calor externo en un aparato de electroforesis con gel vertical, para la circulación y refrigeración de la solución amortiguadora o tampón. El aparato da acomodo a cajetas que actúan separando los dos pozos de solución amortiguadora. Se han formado unos accesos o lumbreras en una de las paredes de los pozos de solución amortiguadora con el fin de canalizar la solución amortiguadora al intercambiador de calor para su refrigeración.

30 En la electroforesis con gel horizontal, el gel está orientado predominantemente en la dirección horizontal. Existen dos tipos generales de disposiciones de electroforesis con gel horizontal. En la primera disposición, el gel se coloca sobre una losa o placa situada por encima de los dos pozos de solución amortiguadora. Cada extremo del gel está en contacto con una mecha trenzada porosa que tiene un extremo colocado en el seno de la solución amortiguadora situada dentro de un pozo de solución amortiguadora. La mecha trenzada transporta una cantidad suficiente de solución amortiguadora y de corriente eléctrica desde el pozo de solución amortiguadora hasta el gel. En la segunda disposición, el gel es sumergido bajo una delgada capa de solución amortiguadora, que se extiende desde uno de

los pozos hasta el otro. Esto recibe, por lo común, la denominación de electroforesis con gel "submarina", puesto que el gel esta, al menos parcialmente, sumergido.

La Publicación de Solicitud de Patente de los EE.UU. N° 20010037940 describe una cajeta convencional para uso en un aparato de electroforesis con gel horizontal. La cajeta sirve, de nuevo, para separar los dos pozos de solución amortiguadora del aparato. Se trata, esencialmente, de una adaptación horizontal del aparato vertical convencional. La cajeta incluye un gel que se extiende al interior de dos depósitos internos a la cajeta (que están inicialmente vacíos). Los dos depósitos están situados en lados opuestos del gel. Cuando la cajeta es insertada en el aparato de electroforesis con gel horizontal, cada depósito de la cajeta se comunica, a través de unas aberturas laterales, con uno de los pozos de solución amortiguadora existente en el aparato. Los pozos de solución amortiguadora del aparato contienen los electrodos para suministrar la tensión. De esta forma, cuando los pozos de solución amortiguadora del aparato se llenan de solución amortiguadora, la solución amortiguadora fluye al interior de los depósitos de la cajeta a través de la aberturas laterales y contacta con cada extremo del gel. Una vez llevado a efecto cada procedimiento de electroforesis, los pozos de solución amortiguadora del aparato son vaciados manualmente y, a continuación, se extrae la cajeta. Los depósitos de la cajeta han de ser vaciados por separado.

Si bien la electroforesis con gel ha llegado a ser omnipresente en los laboratorios de biología molecular, ha seguido siendo un procedimiento laborioso y que lleva mucho tiempo, y que se ha resistido en gran medida a la automatización debido a la necesidad de la intervención humana en diversas instancias. Estas incluyen no solo el llenado y el vaciado de los pozos de solución amortiguadora, sino también la extracción del gel, el vertido de las especies moleculares por separado de manera que impregnen una membrana y, a continuación, su manchado o tintado. Se han adoptado algunos pasos para minimizar o eliminar algunas de las etapas más laboriosas. Por ejemplo, las Patentes de los EE.UU. Nos. 3.715.295, 3.865.712, 5.582.702 y 5.865.974 describen cajetas autoportantes que incluyen un gel previamente colado, electrodos y una solución amortiguadora. Estas cajetas tan solo requieren la conexión a una fuente de tensión para su funcionamiento. Tales cajetas autoportantes se comercializan por la Invitrogen Corporation (Carlsbad, CA), bajo la marca comercial E-Gel®. Por su propia naturaleza, tales cajetas autoportantes utilizan pequeñas cantidades de solución amortiguadora y llevan corrientes bajas cuando están en funcionamiento, por lo que se elimina la necesidad de un sistema de refrigeración dedicado o de uso exclusivo.

La electroforesis con gel bidimensional ("2D") es una herramienta de separación extremadamente poderosa que se está convirtiendo en una primera etapa de importancia creciente en el análisis proteómico. La electroforesis con gel 2D implica, por lo común: (1) una separación "de primera dimensión" de acuerdo con un punto isoeléctrico situado en el seno de un gel con gradiente de pH, (2) la transferencia de la especie molecular separada a un segundo gel, y (3) una separación "de segunda dimensión" de acuerdo con el tamaño molecular, a lo largo de una dirección perpendicular a la de la primera separación. La necesidad de utilizar dos geles diferentes y la complejidad y variabilidad de la transferencia entre ellos, hace que la automatización de la electroforesis con gel 2D constituya un desafío aún mayor que el de la electroforesis con gel 1D.

Un sistema para la separación 2D se explica en la Patente de los EE.UU. N° 4.443.319. El sistema divulgado en esa Patente utiliza una cajeta que incluye tanto el gel como el electrodo y que se abre para la admisión de la solución amortiguadora. Se adoptan disposiciones para que se utilicen un segundo gel y un segundo conjunto de electrodos cuando la cajeta se emplea en una electroforesis con gel 2D. Sin embargo, las etapas implicadas en el sistema divulgado son bastante complicadas o embarazosas y han de llevarse a cabo manualmente.

Haber ha desarrollado una técnica de electroforesis revolucionaria (a la que se hace referencia en lo sucesivo como la "técnica de Haber") que permite llevar a cabo separaciones en tan poco como cinco minutos. Las Patentes de los EE.UU. Nos. 3.984.298 y 4.146.454 describen la técnica de Haber. Además del corto tiempo del ciclo, la técnica de Haber utiliza pequeñas cantidades de corriente y un pequeño volumen de solución amortiguadora. Específicamente, la técnica de Haber utiliza menos de un milímetro de solución amortiguadora en cada pozo y se hace funcionar con corriente por debajo de 0,5 mA. De esta forma, no hay necesidad de un sistema de refrigeración. Las soluciones amortiguadoras utilizadas con esta técnica contienen supresores de la conductividad. De acuerdo con ello, la mayor parte de la corriente es transportada por la especie molecular que está siendo separada, en lugar de por los iones contenidos en la solución amortiguadora, como en la electroforesis con gel convencional. La muestra se coloca cerca de la parte media del sustrato de separación (al que se hace referencia en lo que sigue de esta memoria como el "sustrato"). Cuando se aplica la corriente, algunas especies moleculares migran hacia el ánodo mientras que otras migran hacia el cátodo. Esta técnica también se describe en la publicación de N. Haber, Proc. Natl. Acad. Sci., 79, 272 (1982) y en la publicación de N. Haber, Biotechnology & Histochemistry (Biotecnología e histoquímica), 73, 59 (1998). Un aparato que utiliza esta técnica se comercializa por la Haber Inc. (Bayonne, NJ).

Desgraciadamente, la técnica de Haber ha recibido una escasa atención, quizá debido a la escasez de sustratos adecuados. Si bien Haber ha utilizado geles, celulosa y otros materiales de sustrato, la mayor parte de su trabajo divulgado utilizaba papel de filtro. La eficiencia fundamental del papel de filtro es que la resolución resultante se ve limitada por el ensanchamiento originado por la difusión que tiene lugar en ausencia de un campo eléctrico aplicado.

Existe, por tanto, la necesidad de un método, un aparato y una cajeta adecuados para separaciones electroforéticas

automatizadas de alta capacidad de producción sobre sustratos sólidos, que puedan aprovecharse de técnicas que se sirven de volúmenes de solución tampón o amortiguadora.

Compendio de la invención

5 La presente invención se refiere a un método para llevar a cabo separaciones electroforéticas sobre un sustrato sólido. El método incluye el suministro y la extracción automatizados de solución tampón o amortiguadora o de otros líquidos a/desde una cámara o cajeta de separación, así como la aplicación controlada de voltajes o tensiones eléctricas.

El procedimiento automatizado elimina o reduce la necesidad de intervención humana una vez que se ha seleccionado el protocolo de separación y se ha iniciado el procedimiento.

10 Se contempla que el procedimiento pueda, opcionalmente, implicar, después de la separación, poner en contacto el sustrato, mientras aún se encuentra dentro de la cajeta, con uno o más líquidos para el tratamiento químico, u otro tratamiento, de la especie molecular separada, tal como por manchado con pigmento; marcado o etiquetado de radiación, inmunológico o de otro tipo; o digestión enzimática.

15 En una realización preferida, después de cada separación, el interior de la cajeta es enjuagado y secado, con el sustrato todavía dentro, con el fin de facilitar la manipulación subsiguiente del sustrato y/o el examen de los resultados de la separación.

20 Se hace referencia en lo que sigue de la presente memoria a la cámara de separación de la invención como una "cajeta" con independencia de si esta es fácilmente insertada en el aparato y extraída de este. Se hace referencia en lo que sigue de esta memoria a una cajeta con un sustrato cargado en su interior, como una "cajeta cargada". La cajeta de la invención incluye al menos un par de depósitos para albergar solución tampón o amortiguadora (a los que se hace referencia en lo sucesivo como "depósitos de solución amortiguadora"), de tal manera que cada depósito contiene un electrodo y cada uno de estos está en contacto con un tramo o sección del sustrato (cuando está cargado). El sustrato se coloca sustancialmente entre cada par de depósitos de solución amortiguadora y en comunicación de fluido con todos los depósitos de solución amortiguadora. Al menos una de las lumbreras externas conecta cada depósito con recipientes de suministro y de desechado de líquido. Al menos una lumbrera externa está conectada a cada depósito para el venteo de aire, ya sea directamente al exterior, ya sea a un recipiente de suministro de gas, y/o para conectar cada depósito a un sistema de presurización / despresurización y/o a un recipiente de desechado de líquido. Al menos un contacto eléctrico externo está conectado a cada electrodo y se utiliza para la conexión a una fuente de suministro de tensión.

30 Para la electroforesis 2D, la cajeta de la invención incluye un segundo conjunto de depósitos y electrodos colocados perpendicular u ortogonalmente al primer conjunto.

El segundo par de electrodos se ha diseñado para generar un campo eléctrico perpendicular al generado por el primer par. Los electrodos están conectados de tal manera que, en cualquier instante dado, puede aplicarse tensión a uno de los pares de electrodos, y no al otro.

35 La cajeta de la presente invención incluye, preferiblemente, un depósito adicional (al que se hace referencia en lo que sigue de la presente memoria como el "depósito de sustrato"), situado entre los dos depósitos de solución amortiguadora para cajetas 1D, y entre los dos pares de depósitos de solución amortiguadora para cajetas 2D, y separado de ellos. El depósito de sustrato encierra la mayor parte del sustrato y sirve para saturar rápidamente el sustrato con solución amortiguadora, solución de pigmento y otros líquidos, o con gases.

40 El sustrato puede ser cargado dentro de la cajeta con la muestra ya en él, o bien la cajeta puede tener al menos una abertura (a la que se hace referencia en lo sucesivo como una "lumbrera para muestra") en una de sus caras, a través de la cual la(s) muestra(s) se coloca(n) sobre el sustrato previamente cargado. La cajeta se ha diseñado, preferiblemente, para ser abierta después de la separación con el fin de permitir la extracción del sustrato y el examen de los resultados de la separación. La caseta, vacía, puede ser recargada ulteriormente con un sustrato nuevo y reutilizarse. Alternativamente, al menos una parte de una de las caras de cajeta es transparente para permitir el examen de los resultados de la separación sin tener que abrir la cajeta y extraer el sustrato, en cuyo caso la cajeta puede ser desechada más adelante con el sustrato en ella. La ventaja ambiental de la cajeta desechable de la invención sobre las de la técnica anterior es que puede hacerse que la cajeta de la invención carezca de soluciones amortiguadoras u otros productos químicos a la hora de desecharla.

50 Preferiblemente, la cajeta de la invención se inserta fácilmente en, y es extraíble de (acoplamiento y desacoplamiento), el aparato en el que se lleva a cabo la separación. En este caso, la cajeta incluye unas lumbreras de fluido y unos contactos eléctricos que se conectan fácilmente a las correspondientes lumbreras de fluido y contactos eléctricos existentes en el aparato. Tales sistemas de conexión rápida son comúnmente utilizados en una amplia variedad de aplicaciones de suministro de líquido, eléctricas y electrónicas. El sustrato puede, de esta forma, ser cargado dentro de la cajeta con antelación y descargado de forma subsiguiente (o bien la cajeta puede ser desechada) sin llevar aparejado el aparato.

Cualquier sustrato adecuado puede ser utilizado con la presente invención, incluyendo papel de filtro, membranas de nitrocelulosa y geles, tales como los que se han descrito en las Patentes de los EE.UU. Nos. 3.984.298 y 4.146.454. Además, diversos geles, preferiblemente fijados a plástico u otro respaldo rígido o flexible, resultan adecuados para ser utilizados con la presente invención, de acuerdo con técnicas de electroforesis con gel convencionales.

- 5 Diversos métodos se describen también en esta memoria para uso con las diferentes realizaciones de cajeta divulgadas. Una realización de método se sirve de un rollo o de pliegues en abanico de sustrato que se mueve continuamente y que pasa a través de una cajeta previamente acoplada.

10 Para separaciones de alta capacidad de producción y automatizadas, el método, el aparato y la cajeta de la invención se combinan, de la forma más ventajosa, con sistemas de laboratorio automatizados convencionales, tales como sistemas de apilamiento y transporte robotizados para el almacenamiento y suministro de cajetas o sustrato, pipetas robotizadas para la colocación automatizada de muestras sobre sustratos, y sistemas de exploración, digitalización, almacenamiento y tratamiento de la separación automática, para el examen de los resultados de la separación.

15 El método, el aparato y la cajeta de la invención resultan de la mayor eficacia para separaciones que requieren tan solo pequeños volúmenes de solución amortiguadora. Por ejemplo, pueden llevarse a cabo de forma automática, sin la intervención humana, trescientas separaciones 2D utilizando la técnica de Haber tal y como es aplicada a la presente invención (incluyendo, en particular, manchado por pigmento), una vez que el procedimiento se ha iniciado, en menos de una hora y consumiendo menos de dos litros de cada solución amortiguadora.

20 Las anteriores y otras características y ventajas de la presente invención se pondrán de manifiesto de forma más evidente a la luz de la siguiente descripción detallada de las realizaciones preferidas de la misma, tal y como se ilustran en las figuras que se acompañan. Como se constatará, la invención es susceptible de modificaciones en diversos aspectos, todas ellas sin apartarse del ámbito de la invención. De acuerdo con ello, los dibujos y la descripción han de considerarse como de naturaleza ilustrativa, y no como limitativos.

Breve descripción de las figuras

25 Para el propósito de ilustrar la invención, los dibujos muestran una forma de invención que es la preferida en el momento presente. Ha de comprenderse, sin embargo, que esta invención no está limitada a las disposiciones e instrumentaciones precisas que se han mostrado en los dibujos.

La Figura 1 ilustra vistas isométricas y en despiece de realizaciones 1D y 2D de una cajeta genérica de acuerdo con la presente invención;

30 Las Figuras 1A-1D ilustran diversos cortes transversales de las cajetas de la Figura 1 de acuerdo con diferentes realizaciones de la presente invención;

Las Figuras 2A-2D ilustran variaciones de corte transversal adicionales de las cajetas de la Figura 1, de acuerdo con realizaciones alternativas de la presente invención;

35 La Figura 3 es una vista en planta superior de una cajeta 2D abierta, de acuerdo con la realización mostrada en la Figura 2D;

La Figura 4 ilustra variaciones de corte transversal adicionales de la cajeta que se muestra en la Figura 2D, de acuerdo con realizaciones alternativas de la presente invención;

La Figura 5 es una vista en planta superior del cuerpo de una cajeta 2D de acuerdo con la realización modificada de la Figura 4C;

40 La Figura 6 es una representación esquemática de sistemas colectores de líquido y de gas para uso en un aparato de acuerdo con la presente invención;

La Figura 7 es una representación esquemática de una cajeta 2D que utiliza un sustrato en rollo o en pliegues en abanico que se mueve continuamente; y

La Figura 8 es una representación esquemática de un aparato de acuerdo con la presente invención.

45 Breve descripción de las diversas realizaciones

La presente invención concierne a un método, a un aparato y a una cajeta para llevar a cabo separaciones electroforéticas automatizadas sobre sustratos sólidos, basándose fundamentalmente en el suministro y la extracción de soluciones tampón o amortiguadoras y de otros líquidos, y de tensiones eléctricas, hacia y desde una cámara de separación (cajeta), todo ello sin la necesidad de la intervención humana una vez que se ha seleccionado el protocolo de separación y se ha iniciado el procedimiento. A menos que se especifique de otro modo, el término "sustrato", tal y como se utiliza en esta Solicitud, está destinado a englobar no solo el sustrato en sí mismo, sino

también cualquier respaldo o armazón sobre el que el sustrato pueda haberse dispuesto. Adicionalmente, es la intención que la referencia a una muestra colocada sobre un sustrato incluya múltiples muestras colocadas sobre el mismo sustrato.

La cajeta de la invención está realizada en gran medida de materiales que son tanto no conductores de la electricidad como resistentes químicamente a las soluciones amortiguadoras que se utilizan. Para uso con la técnica de Haber, los materiales preferidos incluyen el politetrafluoroetileno ("PTFE", que es comercializado por la DuPont Company bajo la marca comercial Teflon®), el PVDF [fluoruro de polivinilideno –"polyvinylidene fluoride"] (que se utiliza comúnmente en tuberías y tubos resistentes a la corrosión), el nilón, el vidrio o la cerámica. Es posible utilizar otros materiales en la presente invención, siempre y cuando cualquier superficie que se exponga a las soluciones amortiguadoras incluya un revestimiento de un recubrimiento rugoso, continuo e impermeable hecho de un material resistente químicamente y aislante de la electricidad, tal como el PTFE, el PVDF, el vidrio o la cerámica. Los componentes que sirven fundamentalmente para la disipación del calor están hechos, ventajosamente, de aluminio con recubrimiento de vidrio, cerámica o PTFE. Para su uso con técnicas de electroforesis con gel convencionales, la cajeta puede también estar hecha de otros materiales que se empleen comúnmente con esas técnicas.

El sustrato puede ser un gel de cualquier tipo que se utilice en la electroforesis con gel convencional. Alternativamente, el sustrato puede ser papel de filtro o cualquiera de los demás sustratos que se describen en la divulgación de Haber. Los sustratos utilizados en la técnica de Haber tienen las ventajas de la velocidad, la baja generación de calor y el uso de poca solución amortiguadora. Con el fin de facilitar su manipulación, especialmente con un funcionamiento automatizado de alta capacidad de producción según se describe más adelante, el sustrato está fijado, preferiblemente, a un respaldo o armazón que proporciona rigidez al sustrato. Existen otros sustratos que se están desarrollando en la actualidad para aplicaciones de microparrillas, o conjuntos ordenados microscópicos, de proteínas, tales como los revestimientos de HydrogelTM que están siendo desarrollados por la PerkinElmer Life Sciences (Boston, MA), que pueden ser utilizados en la presente invención.

Como se describe más adelante, se hace referencia en lo sucesivo al plano del sustrato como el "plano XY", la dirección de la separación en la primera dimensión es la "dirección X", la dirección de la separación en la segunda dimensión es la "dirección Y", y la normal al plano del sustrato es la "dirección Z". Por simplicidad, se supone que: (1) la cajeta se ha conformado a grandes rasgos como un paralelepípedo, de manera que dos superficies opuestas (a las que se hace referencia en lo sucesivo como "caras") son mucho mayores que las otras cuatro (a las que se hace referencia en lo sucesivo como "bordes"); y (2) las caras de la cajeta son paralelas al plano XY y son horizontales. Por supuesto, la cajeta puede adoptar una variedad de formas diferentes y, por lo tanto, la forma proporcionada a modo de ejemplo y que se ha descrito anteriormente no se ha de considerar como limitativa en ningún modo particular. Similarmente, es la intención que las figuras que se acompañan sean tan solo representaciones esquemáticas y, puesto que las dimensiones de los componentes pueden diferir en tanto como dos órdenes de magnitud, las figuras no se han dibujado a escala con el fin de mostrar algunas de las dimensiones más pequeñas con mayor claridad. Además, las figuras no muestran algunas características que, aunque ventajosas, solo sirven: (1) para guiar, alinear o colocar diversas partes de la cajeta unas con respecto a otras; (2) para bloquear la cajeta, cerrada; o (3) para guiar, alinear o colocar la cajeta con respecto al aparato. Estas características, y su interacción con la cajeta, resultarán fácilmente evidentes para los expertos de la técnica a la luz de las enseñanzas proporcionadas en esta memoria.

La cajeta de la invención se acopla en el aparato de electroforesis a través de dos colectores de fluido, uno de ellos utilizado fundamentalmente para líquidos (al que se hace referencia en lo sucesivo como el "colector de líquido"), y otro utilizado fundamentalmente para gases (al que se hace referencia en lo que sigue de esta memoria como el "colector de gas"). Los dos colectores de fluido pueden ser entidades independientes o pueden estar combinados en un colector único. La cajeta también conecta con un colector eléctrico existente en el aparato. El colector eléctrico puede ser una entidad independiente o bien puede combinarse con uno o con ambos colectores de fluido en una única entidad. Los colectores son, todos ellos, controlados (preferiblemente de forma automática) por el aparato, según se describe con mayor detalle más adelante. Los colectores de fluido canalizan los fluidos entre cada depósito de la cajeta y las fuentes de suministro de fluido o los recipientes de desecho asociados que están dispuestos en el aparato o conectados a él. Se ha contemplado que, además de soluciones amortiguadoras y soluciones de lavado, los líquidos que pueden ser suministrados a través de los colectores incluyen los destinados al tratamiento de las especies moleculares separadas, tal como el manchado con pigmento, el marcado o etiquetado por radiación, inmunológico o de otro tipo, y la digestión enzimática. Si bien se requieren soluciones amortiguadoras en la presente invención, una para las separaciones 1D y dos para las separaciones 2D, es opcional el uso de soluciones amortiguadoras adicionales para llevar a efecto múltiples protocolos de separación en diferentes muestras, o el uso de soluciones de lavado o de pigmento, u otros líquidos para el tratamiento ulterior a la separación. Puesto que el manchado con pigmento es un tratamiento ulterior a la separación muy común, la presente memoria se refiere específicamente al uso de soluciones de pigmento y el procedimiento de manchado con pigmento. Sin embargo, debe ser claramente evidente que es posible utilizar uno o más tratamientos ulteriores a la separación, en lugar de, o además de, el manchado con pigmento. Por otra parte, el tratamiento puede ser aplicado antes de la separación o durante esta, de tal manera que es posible examinar el progreso de la separación mientras avanza la separación. Para todos los propósitos de esta Solicitud, se considera que la referencia al tratamiento ulterior a la separación incluye cualquier tratamiento que se aplique antes de la separación o durante esta, siempre y cuando se efectúen

las modificaciones apropiadas en la secuencia de las etapas de la separación.

La primera realización del método de la presente invención hace uso de una cajeta desechable cerrada que ha sido previamente cargada con un sustrato nuevo, e incluye las etapas de: (1) colocar una muestra sobre el sustrato a través de un acceso o lumbrera para muestra existente en la cajeta cerrada, y, si es necesario, taponar la lumbrera para muestra; (2) acoplar la cajeta; (3) suministrar, y extraer, fluidos y tensiones a, y desde, la cajeta con el fin de llevar a cabo la separación y el tratamiento ulterior a la separación; (4) desacoplar la cajeta; (5) examinar los resultados de la separación; y (6) desechar o reciclar la cajeta utilizada. La cajeta utilizada puede ser reciclada descargando el sustrato utilizado y cargando uno nuevo. Como se ha descrito anteriormente, la cajeta puede incluir una ventana transparente para permitir la visión del sustrato tratado, si bien semejante ventana transparente no es necesaria si el examen de los resultados de la separación se hace mediante un método no óptico tal como la radiografía. Alternativamente, siguiendo a la separación y al tratamiento ulterior a la separación, la cajeta puede ser abierta y el sustrato puede extraerse para el examen de los resultados directamente, con lo que elimina la necesidad de que la cajeta tenga una ventana transparente para ver los resultados de la separación.

Para las separaciones 2D, la etapa 3 del párrafo precedente incluye, preferiblemente, las siguientes etapas subordinadas, o subetapas: (i) admitir una primera solución amortiguadora al interior de los depósitos de solución amortiguadora de la primera dimensión, hasta que el nivel de la primera solución amortiguadora se encuentre al menos por encima del sustrato y de los electrodos de la primera dimensión; (ii) esperar hasta que el sustrato esté saturado con la primera solución amortiguadora, (iii) aplicar una tensión a los electrodos de la primera dimensión hasta que se haya completado la separación en la primera dimensión, al tiempo que (preferiblemente) se extrae cualquier cantidad de primera solución amortiguadora que se haya introducido en los depósitos de solución amortiguadora de la segunda dimensión a través de la sección transversal del sustrato; (iv) vaciar sustancialmente los depósitos de solución amortiguadora de la primera dimensión; (v) opcionalmente, enjuagar los depósitos de solución amortiguadora de las primera y segunda dimensiones así como el sustrato con una solución de lavado; (vi) admitir una segunda solución amortiguadora al interior de los depósitos de solución amortiguadora de la segunda dimensión, hasta que el nivel de la segunda solución amortiguadora se encuentre el menos por encima del sustrato y de los electrodos de la segunda dimensión; (vii) esperar hasta que el sustrato se haya saturado con la segunda solución amortiguadora; (viii) aplicar una tensión a los electrodos de la segunda dimensión hasta que se haya completado la separación en la segunda dimensión, al tiempo que (preferiblemente) se extrae cualquier cantidad de la segunda solución amortiguadora que se haya introducido en los depósitos de solución amortiguadora de la primera dimensión a través de la sección transversal del sustrato; (ix) vaciar sustancialmente los depósitos de solución amortiguadora de la segunda dimensión; (x) opcionalmente, enjuagar todos los depósitos y el sustrato con solución de lavado; y (xi) opcionalmente, secar todos los depósitos y el sustrato con aire u otro gas.

Opcionalmente, si se desea un tratamiento ulterior a la separación, se llevan a cabo las siguientes subetapas adicionales entre las subetapas (x) y (xi): (a) admitir una solución de pigmento para manchado u otro líquido para el tratamiento ulterior a la separación, al interior de los depósitos de solución amortiguadora de las primera y segunda dimensiones; (b) esperar a que se haya completado el manchado u otro tratamiento ulterior a la separación; (c) vaciar sustancialmente los depósitos de solución amortiguadora de las primera y/o segunda dimensiones; (d) opcionalmente, enjuagar los depósitos de solución amortiguadora de las primera y/o segunda dimensiones así como el sustrato con solución de lavado. Para las separaciones 1D, las subetapas (vi) a (xi) se omiten; cualquier tratamiento opcional ulterior a la separación se lleva a cabo después de la subetapa (v) de una manera análoga.

El método anterior es una realización preferida que puede ser utilizada con una amplia variedad de cajetas. Una realización de una cajeta 10 para uso en el método se ha mostrado esquemáticamente en la Figura 1, que es una vista isométrica de la cajeta con sus partes superior e inferior mostradas por separado. En esta figura, no se ha mostrado ningún sustrato en aras de la claridad. Haciendo referencia, a continuación, a las Figuras 1A-1D, se muestran en ellas diversas configuraciones en corte transversal de la cajeta, cada una de las cuales muestra una configuración alternativa según se toma a lo largo de la línea de corte de la Figura 1. Específicamente, como se muestra en la Figura 1A, la cajeta 10 incluye una parte superior o cubierta 12 y una parte inferior o cuerpo 14. La cubierta 12 y el cuerpo 14 se han diseñado para encajar o cerrarse herméticamente entre sí para formar un recinto. La combinación de las partes superior e inferior 12, 14 define al menos dos depósitos 14 de solución amortiguadora separados uno de otro. Como se muestra, cada depósito está formado por unas cavidades rebajadas 18. Si bien la realización que se ilustra muestra cavidades rebajadas en ambas partes superior e inferior, se contempla que solo una parte (ya sea la superior, ya sea la inferior) pueda incluir la cavidad rebajada 18.

Al menos un electrodo 20 está montado dentro de cada depósito 16 de solución amortiguadora. El electrodo se encuentra situado de tal manera que puede transmitirse corriente eléctrica al seno de una solución amortiguadora situada dentro del depósito. Unos conductores eléctricos (no mostrados) se extienden desde el electrodo hasta un contacto eléctrico situado en una superficie externa de la cajeta 10.

Como la cajeta 2D incluye depósitos adicionales que son ortogonales al primer conjunto de depósitos de solución amortiguadora, debe ser claramente evidente que una cajeta 2D parecerá idéntica en sección transversal a la cajeta que se muestra en la Figura 1A.

Un sustrato 22 se sitúa sobre un soporte 24 de sustrato formado en la parte inferior 14, entre las dos cavidades rebajadas 18 de la Figura 1A. (Por supuesto, en una cajeta 2D, el soporte 24 de sustrato se extenderá entre todas las cavidades rebajadas de la parte inferior 14.) Una cubierta 26 de sustrato se ha formado, preferiblemente, en la parte superior 12, entre sus cavidades rebajadas 18 asociadas. Como se explicará con mayor detalle más adelante, la cubierta 26 de sustrato y el soporte 24 de sustrato se han formado en (o fijado a) las partes superior e inferior 12, 14 de tal manera que la cubierta 26 de sustrato contacta, de preferencia, sustancialmente con la superficie superior del sustrato 22, y el soporte 24 de sustrato contacta sustancialmente con la superficie inferior del sustrato 22, por lo que se empareda el sustrato 22 entre los dos. A fin de proporcionar un cierre hermético u obturación apropiada sin dañar el sustrato 22, las paredes interiores 19U, 19L de las cavidades rebajadas 18 han de haberse configurado de modo tal, que el espacio de separación formado entre las paredes interiores 19U, 19L hace que estas estén separadas justo lo suficiente para contactar con el sustrato 22 cuando la parte superior 12 se dispone formando un cierre hermético con la parte inferior 14.

Un acceso o lumbrera 28 para muestra se ha formado en la cubierta 26 de sustrato y proporciona unos medios para situar una muestra sobre un sustrato 22 sin tener que abrir la cajeta 10. La posición de la lumbrera 28 para muestra puede ser cualquier posición adecuada en la cubierta 26 de sustrato, dependiendo del procedimiento que se vaya a efectuar. La lumbrera de la Figura 1A se ha mostrado ubicada centralmente, lo que está asociado, por lo común, con funcionamientos 2D que utilizan la técnica de Haber (es decir, se coloca una única muestra aproximadamente equidistante de los cuatro electrodos). Para un funcionamiento 1D con la técnica de Haber, pueden colocarse múltiples muestras en una línea paralela a los electrodos 20 y aproximadamente a mitad de camino entre ellos, en cuyo caso la cajeta tiene múltiples lumbreras 28 para muestra o puede tener una ranura alargada. Para técnicas de electroforesis con gel 2D convencionales, la lumbrera 28 para muestra está situada de tal manera que permita que una muestra sea colocada cerca de una de las esquinas del sustrato para separaciones 2D. Para técnicas de electroforesis con gel 1D convencionales, la lumbrera 28 para muestra estará situada de tal manera que permita la colocación de múltiples muestras cerca de uno de los extremos del sustrato, aproximadamente paralelas a uno de los electrodos 20. Por supuesto, la cajeta puede haberse configurado sin ninguna lumbrera 28 para muestra. Sin embargo, en tales casos, el sustrato 22 tendrá que ser cargado dentro de la cajeta con una muestra ya dispuesta sobre él.

Como se ha explicado anteriormente, la cubierta 26 y el soporte 24 del sustrato contactan, preferiblemente, con el sustrato. Además de proporcionar un cierre hermético, el contacto sirve para disipar el calor generado durante la separación. Con el fin de permitir el examen de la separación sin tener que abrir la cajeta, es preferible que al menos uno de entre la cubierta 26 y el soporte 24 incluya una ventana transparente (o esté hecho de un material transparente).

La cajeta 10 incluye, preferiblemente, unas lumbreras 30 para fluido que se comunican con cada depósito 16 de solución amortiguadora. Las lumbreras 30 para fluido suministran y expulsan líquidos de los depósitos 16 de solución amortiguadora. Como se muestra, las lumbreras 30 para fluido están formadas, preferiblemente, en el fondo de la cavidad rebajada 18, en la parte inferior 14. Si bien las lumbreras 30 se han mostrado centralmente situadas, esto no es una necesidad. Sin embargo, se prefiere que las cavidades 18 estén configuradas para facilitar el flujo de líquido hacia y desde las lumbreras 30, con lo que se aporta facilidad de llenado y de vaciado de los depósitos 16. Como se explicará con más detalle más adelante, las lumbreras 30 para fluido se comunican con depósitos de suministro y de desecho adecuados situados en el aparato de electroforesis asociado.

La cajeta 10 también incluye, de preferencia, unas lumbreras de venteo 32 que se comunican con los depósitos 16 de solución amortiguadora. Las lumbreras de venteo 32 se han formado, preferiblemente, como aberturas que desembocan en las cavidades rebajadas de la parte superior 12. Las lumbreras de venteo 32 sirven para liberar el aire desplazado por la solución amortiguadora al entrar en los depósitos 12, cualquier cantidad de solución amortiguadora evaporada, o cualesquiera gases generados durante la separación. Las lumbreras de venteo 32 también permiten que se readmita aire al interior de los depósitos 16 cuando la solución amortiguadora es extraída. A fin de impedir el desbordamiento de líquido a través de las lumbreras de venteo 32, puede haberse incorporado un flotador u otra válvula de cierre antirretorno (no mostrada) en el interior de la parte superior 12. Las lumbreras de venteo 32 pueden ventilar o evacuar directamente al ambiente o, preferiblemente, están conectadas, a través de un colector de gas, a un sistema de recuperación de gas. Se ha contemplado la posibilidad de utilizar aire (u otro gas) a presión para facilitar la extracción de solución amortiguadora y la limpieza de la cajeta, así como aire despresurizado para facilitar el llenado. En tales casos, las lumbreras de venteo 30 están, preferiblemente, conectadas, a través de un colector de gas, a una fuente de presurización o de despresurización.

Durante el funcionamiento de la cajeta 10 de la Figura 1A, la solución amortiguadora es canalizada, a través de las lumbreras 30 para fluido, al interior de los depósitos 16, hasta que el nivel de solución amortiguadora alcanza una altura deseada (mostrada por las líneas discontinuas B) que se encuentra por encima tanto del sustrato 22 como de los electrodos 20. Tras la separación, la solución amortiguadora es expulsada a través de las lumbreras 30 para fluido, a un sistema de desecho líquido, a la vez que se admite aire u otro gas a través de las lumbreras de venteo 32.

Alternativamente, si se desea un flujo de solución amortiguadora en un solo sentido, ya sea de forma continua, ya

sea periódicamente, el procedimiento se hará cursar de manera que la solución amortiguadora entre en los depósitos 16 a través de las lumbreras 30 y salga a través de las lumbreras de venteo 32. En esta variante de la invención, será necesario que las lumbreras de venteo 32 se conecten a un recipiente de desecho líquido. El flujo de solución amortiguadora puede darse también en el sentido opuesto, esto es, de manera que la solución amortiguadora entre a través de las lumbreras 32 y salga a través de las lumbreras 3, si bien esta disposición es menos deseable.

Al igual que con las lumbreras 30 para fluido, las lumbreras de venteo 32 pueden estar situadas en cualquier posición adecuada para facilitar la operación de electroforesis, tal como en las paredes laterales de las partes superior e inferior. También, puede ser deseable, dependiendo de la configuración del aparato, formar las lumbreras de venteo 32 de un modo tal, que estas se extienden a través de las paredes de la cajeta o con conductos externos hasta el fondo de la cajeta, por lo que se permite el suministro tanto de líquidos como de gases tan solo desde un único lado de la cajeta. También, deberá ser claramente evidente que la realización mostrada y descrita está destinada a la electroforesis horizontal. Sin embargo, las enseñanzas que se proporcionan en esta memoria son también aplicables a la electroforesis con la cajeta orientada verticalmente o con cualquier otra inclinación, siempre y cuando las lumbreras 30 y 32 están apropiadamente situadas.

Tal como se muestra en la Figura 1, la cajeta 10 es, ventajosamente, susceptible de ser separada en dos partes con el fin de facilitar su construcción y permitir la carga y descarga cómodas del sustrato 22. El acoplamiento o contacto de las partes se realiza de una forma estanca al fluido con el fin de evitar la fuga de solución amortiguadora. Preferiblemente, una junta de estanqueidad de compresión continua 34, un elemento de obturación de junta tórica u otro dispositivo de obturación está situado entre las partes superior e inferior 12, 14.

La parte superior o cubierta 12 puede estar conectada o unida a la parte inferior o cuerpo 14 de cualquier manera conveniente, tal como con una bisagra o articulación o unos sujetadores, o bien puede deslizarse sobre unas acanaladuras formadas en la parte inferior. Alternativamente, las partes superior o inferior pueden mantenerse juntas mediante presión mecánica desde el aparato de electroforesis. Se contempla también la posibilidad de que la cajeta incluya una parte de guía o alineación que encaja con partes de guía o alineación existentes en el aparato, a fin de permitir un acoplamiento apropiado de la cajeta. En la realización de cajeta que se muestra en la Figura 1A, el sustrato 22 está saturado con solución amortiguadora únicamente a través de las pequeñas partes del sustrato 22 que se extienden dentro de los depósitos 16 de solución amortiguadora. Esto alarga el tiempo de separación considerablemente, una consideración importante cuando se utiliza la técnica de Haber (lo que permite llevar a cabo las separaciones en cada dimensión en aproximadamente cinco minutos). Por lo tanto, si se desea una alta capacidad de producción, es importante acelerar en la medida de lo posible cualesquiera etapas previas y subsiguientes a las etapas de separación en sí.

Haciendo referencia a la Figura 1B, se muestra en ella una segunda realización de la cajeta 10. En esta realización, los depósitos 16 de solución amortiguadora no están separados. En lugar de ello, se permite que una solución amortiguadora fluya entre las soluciones amortiguadoras situadas por encima de la parte superior del sustrato. En esta configuración, las paredes interiores 19U, 19L están dimensionadas de una manera tal, que sigue existiendo un espacio de separación o intersticio entre la parte superior y la parte inferior cuando estas se juntan una con otra formando un cierre hermético. De esta forma, durante el uso, el sustrato 22 se cubrirá con una capa de solución amortiguadora de una manera análoga a la electroforesis con gel submarina. La solución amortiguadora adicional aumenta la velocidad de difusión dentro del sustrato 10. Sin embargo, la solución amortiguadora adicional da como resultado un paso de corriente incrementado a través de la capa de solución amortiguadora, por encima del sustrato 22. El aumento de la corriente contribuye a la generación de calor durante el procedimiento sin ayudar al desarrollo del procedimiento. Se hace referencia en la presente memoria a esta corriente incrementada como "corriente improductiva". Con el fin de minimizar la corriente improductiva (y, por tanto, minimizar el desarrollo no deseado de calor innecesario), es deseable hacer que la capa de solución amortiguadora que está sobre el sustrato sea lo más delgada posible. Por otra parte, en esta realización, la lumbrera 28 para muestra sirve para evitar que quede atrapado aire bajo la cubierta 26 de sustrato.

Haciendo referencia, a continuación, a la Figura 1C, se muestra en ella una realización de la invención que incluye una capa porosa 35, tal como papel de filtro o un material esponjoso, que se sitúa entre el sustrato 22 y el soporte 24 de sustrato. Alternativamente, la capa porosa 35 puede ser colocada entre el sustrato 22 y la cubierta 26 de sustrato, o a ambos lados del sustrato 22. La capa porosa 35 sirve para facilitar el flujo de solución amortiguadora al interior del sustrato 22.

Haciendo referencia, a continuación, a la Figura 1, se muestra en ella una cuarta realización de cajeta. En esta realización, el sustrato 22 es más grande y se extiende al interior de los depósitos 16, y se dobla hacia abajo dentro de ellos. Los extremos del sustrato 22 están, preferiblemente, asegurados en el fondo de los depósitos 12 de solución amortiguadora por unos resaltes 36 o algún otro medio. A fin de asegurarse de que la solución amortiguadora no queda atrapada por detrás de los resaltes 36 ni por detrás del sustrato 22 (donde este último se encuentra con el fondo de los depósitos 12 de solución amortiguadora), tanto los resaltes 36 como el sustrato 22 tienen unas aberturas sustanciales que permiten a la solución amortiguadora escapar. En esta realización de cajeta, la solución amortiguadora se admite, primeramente, hasta el nivel mostrado por las líneas discontinuas identificadas

por la letra B, a fin de permitirle formar una capa de solución amortiguadora sobre el sustrato 22. Llegados a este punto, los depósitos 16 de solución amortiguadora (así como los depósitos de solución amortiguadora de la segunda dimensión) están conectados en comunicación de fluido. Una vez que el sustrato 22 es saturado con solución amortiguadora, el nivel de la solución amortiguadora se hace descender hasta el nivel mostrado por las líneas discontinuas identificadas por la letra C y, a continuación, se inicia el procedimiento de separación.

Cuando se utiliza la realización de la cajeta mostrada en la Figura 1D, el método anteriormente descrito se modifica añadiendo las subetapas (tanto en la versión 1D como en la 2D) de hacer descender el nivel de la primera solución amortiguadora por debajo del área de separación horizontal del sustrato, de tal modo que se encuentre situada dentro de la solución amortiguadora una cantidad suficiente de sustrato para permitir que fluya corriente eléctrica desde la solución amortiguadora al interior del sustrato.

Se ha contemplado también que, cuando se utiliza la realización de la cajeta mostrada en la Figura 1D, la solución amortiguadora puede ser admitida a través de la lumbrera 28 para muestra y discurre sobre el sustrato 22 hacia abajo, al interior de los depósitos 16 de solución amortiguadora, hasta que el nivel de la solución amortiguadora se encuentre a la altura mostrada por las líneas discontinuas C, y la separación se desarrolla con la solución amortiguadora a ese nivel.

Haciendo referencia a la Figura 2A, se muestra en ella una realización preferida de la cajeta 10. En esta realización, toda la periferia o contorno de la cubierta 26 de sustrato está fijada a la porción superior 12 a través de una articulación 38 estanca al fluido, la cual permite el movimiento hacia arriba y hacia abajo de la cubierta 26 de sustrato. Durante el funcionamiento, cuando no se aplica ninguna tensión, la cubierta 26 de sustrato está generalmente situada por encima y alejada del sustrato 22. Se introduce entonces la solución amortiguadora, que fluye a través de la parte superior del sustrato 22, con lo que se satura rápidamente el sustrato 22. Tras la saturación, la cubierta 26 del sustrato se encuentra situada en contacto con el sustrato 22, por lo que funciona, de esta forma, como un sumidero de calor, en tanto que, al mismo tiempo, fuerza a desplazarse cualquier exceso de solución amortiguadora desde la parte superior del sustrato 22. La articulación 38 carga, preferiblemente, la cubierta 26 de sustrato en alejamiento del sustrato 22. La cubierta 26 de sustrato es forzada o empujada hacia abajo contra el sustrato 22 por el aparato, cuando se aplica la tensión. El soporte 24 de sustrato puede, de la misma manera (o alternativamente) ser fijado a la parte inferior a través de una articulación, de tal manera que el soporte puede ser controlado para moverse hacia el sustrato y en alejamiento de este. El mismo resultado puede obtenerse reemplazando la articulación por una junta de estanqueidad que proporcione un elemento de obturación de compresión o deslizante, de una manera similar a la que se describe más adelante.

La Figura 2B ilustra una variación sobre la realización de la articulación que se ha descrito en lo anterior. En esta realización, las partes superior e inferior 12, 14 son movibles una con respecto a la otra. Esto puede conseguirse incorporando un elemento de obturación de compresión 40, tal como una junta de estanqueidad (junta tórica) de tubo de alta adaptabilidad, o una junta de estanqueidad en V, en lugar del elemento de obturación que se ha descrito en lo anterior. La flexibilidad del elemento de obturación permite la variación en la separación entre las partes superior e inferior, al tiempo que se mantiene una obturación estanca al fluido. De esta forma, en la realización mostrada en la Figura 2A, la separación inicial de las partes superior e inferior 12, 14 es tal, que se permite que se forme una capa de solución amortiguadora sobre el sustrato 22 con el fin de aumentar la velocidad de saturación. Una vez completada la saturación, las partes superior e inferior 12, 14 son comprimidas o apretadas una hacia otra, con lo que se elimina la solución amortiguadora situada encima del sustrato 22. Pueden conseguirse resultados similares con la disposición preferida que se muestra en la Figura 2C, en la que un elemento de obturación deslizante se ha incorporado entre las partes superior e inferior 12, 14. El elemento de obturación deslizante incluye una junta de estanqueidad tórica 42, provista de unos muelles o resortes opcionales 44 para cargar la parte superior 12 en alejamiento de la parte inferior 14.

En las realizaciones de cajeta mostradas en las Figuras 2A-2C, cuando estas cajetas están configuradas para la separación 2D (es decir, hay cuatro depósitos de solución amortiguadora), una vez que el sustrato 22 ha sido saturado con solución amortiguadora y se ha eliminado la capa de solución amortiguadora situada por encima del sustrato, aún seguirá quedando solución amortiguadora en todos los depósitos 16 de solución amortiguadora, incluyendo los depósitos no operativos. La solución amortiguadora contenida en los depósitos no operativos puede proporcionar un camino o recorrido para corriente improductiva y, por tanto, aumentar la disipación de calor. Con el fin de minimizar la corriente improductiva y reducir la cantidad de calor disipado, los depósitos de solución amortiguadora no operativos son, preferiblemente, vaciados antes de aplicar tensión para cada separación. Por ejemplo, a la hora de llevar a efecto la separación en la primera dimensión, los depósitos de solución amortiguadora de la segunda dimensión son vaciados antes de aplicar tensión. La solución amortiguadora que se ha extraído puede ser canalizada hacia los depósitos 16 de solución amortiguadora apropiados, a través del colector de líquido existente en el aparato. Se acomete una operación similar antes de comenzar la separación en la segunda dimensión.

Haciendo referencia, a continuación, a la Figura 2D, se muestra en ella otra realización preferida de la cajeta que incorpora un depósito adicional 46 (al que se hace referencia en lo sucesivo como el "depósito de sustrato"), situado por encima o por debajo de la porción central del sustrato 22. El depósito 46 de sustrato se comunica con los

colectores de fluido a través de sus propias lumbreras de alimentación / escape y de venteo (no mostradas en el plano de corte transversal). La lumbrera 28 para muestra puede también servir como lumbrera de venteo para el depósito 46 de sustrato, o bien puede ser enchufada una vez que se ha colocado una muestra sobre el sustrato 22.

5 El depósito 46 de sustrato puede ser llenado con la primera solución amortiguadora antes, al mismo tiempo o después de que se llenen los depósitos 16 de solución amortiguadora. Debido a la gran superficie expuesta o al descubierto del sustrato 22 dentro del depósito 46 de sustrato, el sustrato 22 se satura rápidamente. Además de suministrar la solución amortiguadora al sustrato 22, el depósito 46 de sustrato puede ser también utilizado, de forma ventajosa, para saturar el sustrato 22 con una solución de pigmento, enjuagar el exceso de pigmento, y secar el sustrato 22 antes de su extracción o antes del examen de los resultados de la separación. Con el fin de minimizar la corriente improductiva, el depósito 46 de sustrato es, preferiblemente, vaciado antes de la aplicación de tensión. A fin de conservar la solución amortiguadora, la solución amortiguadora puede ser canalizada hasta los depósitos 16 de solución amortiguadora apropiados, a través del conector de líquido existente en el aparato, o bien internamente a través de la cajeta, en lugar de ser desechada. Alternativamente, el volumen de solución amortiguadora dentro del depósito 46 de sustrato puede ser limitado a una cantidad suficiente como para saturar el sustrato 22 sin que se deje por encima sustancialmente ningún exceso de solución amortiguadora.

15 Cuando está vacío, el depósito 46 de sustrato proporciona un pobre contacto térmico entre el sustrato 22 y la cubierta 26 de sustrato. Así, pues, esta realización de la cajeta se basa fundamentalmente en el soporte 24 de sustrato para la disipación de calor. A fin de paliar esta deficiencia, un líquido aislante de la electricidad puede ser introducido en el depósito 46 de sustrato durante la aplicación de tensión. Tales líquidos se utilizan comúnmente en aplicaciones en transformadores de alta tensión. El líquido se ha de seleccionar de tal manera que tenga una viscosidad lo suficientemente elevada como para impedir su difusión al seno del sustrato 22.

20 Si bien se prefiere la disposición en dos partes para las cajetas que se muestra en las Figuras 1, 1A-1D y 2A-2D anteriores, son posibles otras disposiciones prácticas. Por ejemplo, la Figura 3 es una vista en planta superior del cuerpo 14 de una cajeta 2D de acuerdo con la realización de la invención mostrada en la Figura 2D, de tal manera que el sustrato 22 se muestra en línea de trazos pero con la junta de estanqueidad 34 en su lugar. Como se ha explicado en lo anterior, esta realización de la invención permite que todo el suministro y el drenaje de líquido se produzca desde el fondo de la cajeta. Los depósitos 16 de solución amortiguadora de las primera y segunda dimensiones, así como el depósito 46 de sustrato, se han mostrado con lumbreras de alimentación / escape 30 para los depósitos de solución amortiguadora. También se ha mostrado un emplazamiento preferido para la lumbrera de alimentación / escape 48 para el depósito 46 de sustrato. El sustrato tiene, preferiblemente, una abertura formada en él con el fin de permitir al fluido fluir hacia y desde el depósito 46 de sustrato, a través de la lumbrera de escape 48 situada por debajo. Los electrodos 20 se extienden dentro de las cavidades rebajadas existentes en el cuerpo 14, de tal manera que la capacidad de conexión eléctrica viene proporcionada a través de la pared de fondo del cuerpo 14. Preferiblemente, se han formado unos contactos eléctricos en la superficie exterior del fondo de la cajeta, los cuales se han diseñado para alinearse con, y contactar con, cuando la cajeta está acoplada, unos electrodos correspondientes dispuestos en el colector eléctrico, los cuales, a su vez, se conectan con una fuente de alimentación de energía existente en el aparato. Los electrodos 20 pueden colocarse en cualquier lugar del interior de los depósitos de solución amortiguadora respectivos, siempre y cuando estén cubiertos con solución amortiguadora durante la separación. Una cajeta 1D será similar a la mostrada, excepto por que el segundo conjunto de depósitos 16 de solución amortiguadora y los electrodos asociados 20 se habrán eliminado.

35 Se ha contemplado que el sustrato 22 pueda haberse conformado en forma de cruz, de manera que se extienda una rama al interior de cada depósito 16 de solución amortiguadora, con independencia de la forma de cualquier respaldo o base a la que esta pueda haberse fijado (por ejemplo, un sustrato en forma de cruz, fijado a un respaldo cuadrado). Alternativamente, si el sustrato 22 cubre la totalidad de la superficie del cuerpo 14, no es necesaria la junta de estanqueidad 34 en el caso de que el sustrato 22 pueda ser comprimido en la periferia o contorno para proporcionar una obturación estanca al fluido.

40 El tamaño y la forma de la cajeta pueden ser modificados según sea necesario, dependiendo del volumen de solución amortiguadora que se necesite. Por ejemplo, las dimensiones de la cara de la cajeta pueden ser reducidas disminuyendo el área proyectada en planta de los depósitos de solución amortiguadora y aumentando su altura. Por ejemplo, para un depósito de sustrato de 8 cm x 8 cm y depósitos de solución amortiguadora de 4 cm x 8 cm, las dimensiones mínimas de la cara de la cajeta son 16 cm x 16 cm. Reduciendo el área proyectada en planta del depósito de solución amortiguadora a 1 cm x 8 cm (y aumentando la altura del depósito de 1 mm a 4 mm), las dimensiones de cara mínimas de la cajeta se reducen a 10 cm x 10 cm. Alternativamente, si se proporciona un flujo continuo de solución amortiguadora, tanto el área proyectada en planta como la altura de los depósitos de solución amortiguadora pueden ser reducidas a tan solo uno o dos milímetros.

45 Si bien las realizaciones de cajeta que se muestran en las Figuras 1A-1D y 2A-2D ilustran los depósitos 16 de solución amortiguadora de manera que se extienden tanto por encima como por debajo del sustrato 22, se ha contemplado también que, en aplicaciones en las que es importante minimizar los volúmenes de solución amortiguadora utilizados (por ejemplo, la técnica de Haber para grandes números de separaciones), los espacios de depósito situados por debajo del sustrato 22 pueden ser eliminados. Haciendo referencia a las Figuras 4A-4C, se

muestran en ellas variaciones en la realización de la cajeta ilustrada en la Figura 2D, las cuales suprimen la cavidad rebajada del cuerpo 14. Los expertos de la técnica serán capaces fácilmente de realizar cambios similares en las demás realizaciones de cajeta (diferentes de la realización de la Figura 1D) a la luz de las enseñanzas de la presente memoria.

5 La Figura 4A muestra la cajeta de la Figura 2D modificada de manera tal, que todos los depósitos se encuentran en el nivel del sustrato 22 o por encima de este, a fin de minimizar el volumen de solución amortiguadora utilizada. Asimismo, el venteo es redirigido a la cara de fondo de la cajeta con el propósito de permitir la recuperación de gas así como la presurización de los depósitos desde un solo lado, con lo que se permite que la cajeta se utilice en una configuración de acoplamiento más simple. Con la cubierta 12 levantada, el sustrato 10 queda libre de moverse sobre la superficie superior del cuerpo 14, con lo que se facilita la carga automatizada. Puesto que tanto las lumbreras de alimentación / escape como las lumbreras de venteo están ahora situadas, todas ellas, en el cuerpo 14, no son visibles en la Figura 4A, sino que se ilustran en la Figura 5.

15 La Figura 4A también ilustra el modo como la cubierta 12 puede ser convenientemente fabricada utilizando tres juntas de estanqueidad 50, 52 y 54 de lámina compresible, las cuales son, de preferencia, sujetas por rozamiento en el interior de la cubierta 12. Puesto que tan solo se requiere que tengan unos pocos milímetros de altura, los depósitos 16 y 46 pueden estar formados por recortes practicados en una única junta de estanqueidad 54 de lámina, de tal manera que las paredes 56 (que se unen fuera del plano de la Figura) los separan. Si bien se ha mostrado una única junta de estanqueidad 54, se contempla también que puedan utilizarse múltiples juntas de estanqueidad con el fin de formar la necesaria altura del depósito. A fin de permitir el venteo a través del fondo, la junta de estanqueidad 50 tiene unos canales recortados horizontales, próximos a la abertura de venteo existente en cada depósito, los cuales se extienden hacia abajo, atraviesan las juntas de estanqueidad 52 y 54 y el cuerpo 14, y terminan en la cara de fondo de la cajeta. Ninguno de los recortes practicados en la junta de estanqueidad 50 se ha mostrado en la Figura 4A, puesto que están fuera del plano del corte transversal. Estos se describen, sin embargo, con mayor detalle en relación con la Figura 5. Alternativamente, la junta de estanqueidad 50, o las tres juntas de estanqueidad 50, 52 y 54, es/son combinada/s con la cubierta 12 formando una única pieza de material moldeada, o bien se forman de otra manera a partir de una única pieza de material.

20 La junta de estanqueidad 54, que tiene un único tramo recortado central grande, sirve para tres funciones principales: (1) compensar el espesor del sustrato 10 y permitir que la junta de estanqueidad 52 forme una obturación o cierre de una manera estanca al fluido con el sustrato 22 y la base 14, (2) coincidir o encajarse con el contorno del sustrato 22 entre depósitos, sin que haya espacios de separación o intersticios que conecten los depósitos, y (3) ayudar a mantener la posición del sustrato 22 en el plano XY. El ajuste entre el recorte central de la junta de estanqueidad 54 y el sustrato 22 es lo suficientemente flojo como para que el sustrato 22 sea insertado con facilidad, y el pequeño intersticio entre los dos es obturado mediante la compresión o apriete de la junta de estanqueidad 54 cuando la cajeta se cierra. La junta de estanqueidad 54 no es necesaria para sustratos delgados, puesto que la junta de estanqueidad 52 puede ser comprimida ligeramente más sobre el sustrato 22 que en ningún otro lugar. Para sustratos 22 mucho más gruesos o para sustratos dispuestos sobre respaldo o armazones, la compresión de la junta de estanqueidad 55 puede no ser suficiente para superar la altura del sustrato 22, y la junta de estanqueidad 54 será entonces necesaria. El cuerpo 14 y la cubierta 12 se disponen formando un cierre hermético entre ellos mediante la junta de estanqueidad 34, la cual es, opcionalmente, una parte integral de una de las juntas de estanqueidad 50, 52 o 56. La altura de la cubierta 12 y el espesor de la junta de estanqueidad 34 se han configurado de tal manera que, al cerrarse la cajeta, las juntas de estanqueidad 52 y 54 no son comprimidas más allá de lo necesario para separar los depósitos 16 y 46.

30 Puede haberse incluido un sumidero de calor 60 en la superficie inferior externa de la base 12, preferiblemente bajo el soporte 24 de sustrato. El sumidero de calor 60 está hecho, preferiblemente, de aluminio o un material similar con una elevada conductividad térmica. Unas aletas de refrigeración 62 pueden haberse añadido para una transferencia de calor incrementada. Preferiblemente, el soporte 24 de sustrato se ha formado como una barrera aislante de la electricidad muy delgada, para una transferencia de calor incrementada. La superficie de fondo del soporte 24 de sustrato puede estar revestida con una pasta de elevada conductividad térmica, a fin de facilitar la transferencia de calor hacia el sumidero de calor 60. Alternativamente, el soporte 24 de sustrato puede haberse formado integral o de una pieza con el sumidero de calor 60. Con el fin de aumentar la refrigeración, puede haberse incorporado un ventilador o soplante dentro del aparato o cajeta. Se ha contemplado también que, en lugar de un sumidero de calor provisto de aletas, el sumidero de calor puede ser una unidad de refrigeración termoeléctrica montada dentro del aparato o cajeta. Otra variante que es posible para el sumidero de calor es el reemplazo de las aletas de refrigeración 62 por una camisa de refrigeración situada dentro del sumidero de calor 60, a través de la cual se hace circular un líquido externamente enfriado. Con algunas modificaciones de la disposición mostrada, el líquido de refrigeración puede consistir en solución amortiguadora que se hace circular desde uno de los depósitos 16 de solución amortiguadora. La cantidad de calor que es necesario disipar depende del procedimiento de separación que se utilice. Por ejemplo, una separación que utilice la técnica de Haber genera, por lo común, del orden de 3 vatios, lo que es bajo, comparado con otros procedimientos, pero no es despreciable.

35 40 45 50 55 60 La Figura 4B muestra una modificación de la realización de la Figura 4A. En esta realización, la sección periférica inferior 64 de la cubierta 12, en la que están situados el sustrato 22 y las juntas de estanqueidad 52 y 54, es

desprendible del resto de la cubierta 66. La totalidad de la sección desprendida (incluyendo la parte 64 del lado de cubierta, el sustrato 22 y las juntas de estanqueidad 52 y 54) es libre de moverse sobre la superficie superior del cuerpo 14, con lo que se facilita la carga automatizada del sustrato.

5 Haciendo referencia, a continuación, a la Figura 4C, se muestra en ella una modificación adicional en la que el soporte 24 de sustrato y el sumidero de calor 60 son desprendibles. De esta forma, la abertura así formada permite a un sustrato ser insertado dentro de la cajeta y, a continuación, colocar de nuevo en ella la sección extraída. Un elemento de obturación 68, tal como una junta de estanqueidad de compresión, es insertado entre el soporte 24 de sustrato y la base 14.

10 La configuración de la Figura 4C también se presta a la modificación de la realización mostrada en las Figuras 2B y 2C mediante el reemplazo del elemento de obturación por una junta de estanqueidad de compresión con una elevada adaptabilidad (Figura 2B), o por un elemento de obturación deslizante (Figura 2C), y la eliminación del recorte central para el depósito 16 de sustrato.

15 Con respecto a las Figuras 4A-4C, resulta claramente evidente que los electrodos 20 pueden, alternativamente, estar fijados al sustrato 22, o a su respaldo o armazón, en lugar de estar sobre el cuerpo 14. O bien los electrodos 20 pueden, alternativamente, estar incorporados dentro de la cubierta 12.

20 En relación con todas las realizaciones de cajeta que se han descrito anteriormente, en particular según se muestran en las Figuras 1, 1A-1D, 2A-2D y 4A-4C, se ha supuesto antes, por simplicidad, que la cajeta está dividida en dos piezas, un cuerpo y una cubierta, entre las cuales se coloca el sustrato. Si bien tal realización se prefiere debido a que tiene muchos beneficios prácticos, particularmente la facilidad de construcción de la cajeta y la facilidad de carga y descarga del sustrato, resultan también prácticas otras realizaciones, aunque menos ventajosas. Haciendo referencia a la Figura 2D, por ejemplo, una cajeta 1D se construye fácilmente de tres partes: el depósito 16 izquierdo, excluida su pared derecha, la sección central que da acomodo al sustrato y que incluye la pared derecha del depósito 16 izquierdo y la pared izquierda del depósito 16 derecho, y el depósito 16 derecho, excluida su pared izquierda.

25 Haciendo referencia, a continuación, a la Figura 5, se muestra en ella una vista en planta superior del cuerpo 14 de una cajeta 2D de acuerdo con la Figura 4C. En la realización que se ilustra, la junta de estanqueidad 34 situada en torno a la periferia y al soporte de sustrato desprendible 24, y el sumidero de calor 60 han sido retirados, mostrando la abertura definida por los bordes 70. Los contornos de los depósitos 16 de solución amortiguadora y del depósito 46 de sustrato, definidos por la junta de estanqueidad 52 anterior, se han mostrado como referencia como líneas de trazos. A fin de que el sustrato 22 sea cargado y descargado sin perturbar ni la fijación del cuerpo 14 a la cubierta 12 ni el acoplamiento del cuerpo 14 en del aparato, todas las lumbreras para fluido y contactos eléctricos se han canalizado hasta posiciones fuera de la sección desprendible.

35 Además, al objeto de facilitar la carga del sustrato 22 a lo largo de la dirección Y (lateral), ninguna de las conexiones con el aparato está situada ni delante ni detrás de la sección desprendible. De esta forma, en relación con la Figura 3, las lumbreras de alimentación / escape 30, 48 se han redirigido al lado utilizando unos canales 72, 74 formados dentro de la junta de estanqueidad 52 (esencialmente prolongaciones de los depósitos). Todas las lumbreras de alimentación / escape atraviesan el cuerpo 14 hacia abajo para terminar en la cara de fondo de la cajeta. Con el fin de canalizar las lumbreras de venteo hacia el fondo, se han cortado unos canales horizontales 76, 78 y 80 en la junta de estanqueidad 50 anterior, los cuales se conectan a unas lumbreras de venteo 82, 84 y 86 que atraviesan las juntas de estanqueidad 52 y 54 y el cuerpo 14. Además, las posiciones de las áreas de contacto se encuentran hacia los lados de la región recortada, por lo que se requiere que las conexiones eléctricas a los electrodos 20 sean encaminadas apropiadamente.

45 Como se muestra en la Figura 5, cada uno de los canales conduce a una lumbrera de venteo diferente, 82, 84 u 86, situada en la cara de fondo de la cajeta. Alternativamente, los canales pueden haberse formado de tal manera que convergen en un único conducto que se extiende hasta una lumbrera de venteo situada en la cara de fondo de la cajeta. Esta alternativa es menos permisiva de los pequeños sobrellenados de los depósitos, puesto que estos no se comunican unos con otros a través de la junta de estanqueidad 50 anterior.

50 Como se ha ilustrado en las figuras que se acompañan, los depósitos de solución amortiguadora de cada par no se han diseñado para comunicarse directamente entre sí. Existen dos razones principales para esto. En primer lugar, es en ocasiones deseable tener una solución amortiguadora diferente en cada uno de los depósitos 16 de solución amortiguadora de cada par, con el fin de que la separación tenga lugar en un gradiente de solución amortiguadora (por ejemplo, un gradiente de pH en el caso de que cada solución amortiguadora tenga un pH diferente). En segundo lugar, un canal lleno de solución amortiguadora que conecta los depósitos 16 de solución amortiguadora de cada par, proporciona un recorrido para la corriente improductiva y se suma a la necesidad de disipar el calor. Si los depósitos 16 de solución amortiguadora de cada par se conectan únicamente a través del colector de líquido, el recorrido no solo es más largo, sino que también es interrumpido durante la aplicación de tensión por dos válvulas aislantes de la electricidad cerradas. Si la disipación del calor y la capacidad de manejo de la corriente no constituyen un problema, entonces la cajeta y el colector de líquido pueden hacerse, ambos, más simples conectando las aberturas de alimentación / escape de los dos depósitos 16 de solución amortiguadora de cada par

situado dentro de la cajeta.

Debido a su naturaleza sustancialmente cerrada, las cajetas de la presente invención pueden hacerse funcionar verticalmente o con cualquier otra inclinación siempre y cuando la disposición de las lumbreras para fluido se haya modificado apropiadamente. Para cada depósito, la abertura de alimentación / escape se encuentra, preferiblemente, cerca del punto más bajo del depósito, de tal manera que no queda sustancialmente nada de líquido cuando el depósito es vaciado, en tanto que la abertura de venteo está, preferiblemente, cerca del punto más alto, de tal manera que no queda sustancialmente nada de aire atrapado cuando el depósito se llena. En consecuencia, la inclinación con la que se debe hacer funcionar la cajeta determina la posición de las aberturas para fluido, para cada depósito. Para el funcionamiento horizontal, la disposición de aberturas para fluido no es crucial, ya que todo el venteo se produce por encima de la parte superior de todos los depósitos. Sin embargo, si los depósitos se encuentran a tan solo unos pocos milímetros de altura, entonces incluso una inclinación de la cajeta relativamente pequeña y fortuita puede tener un efecto significativo. Una fácil solución consiste en inclinar a propósito la cajeta lo bastante como para asegurarse de que las aberturas de alimentación / escape y venteo se encuentran siempre cerca de cada punto más alto y más bajo del depósito, respectivamente, incluso si el aparato no está estrechamente nivelado. Preferiblemente, la inclinación deberá ser mayor de diez grados.

Además de poder hacerse funcionar horizontalmente, la cajeta 2D de la Figura 5 satisface todos los requisitos de funcionamiento con el borde de la parte superior de la Figura situado más alto que el borde de la parte inferior de la Figura (por ejemplo, verticalmente). Esto puede hacerse posible gracias a la dirección vertical o erguida de los canales 76, 78 y 80, como se muestra, que permite un llenado completo de todos los depósitos con la cajeta orientada verticalmente. Como alternativa, los canales de venteo 76, 78 y 80 pueden haberse dirigido, todos ellos, de una manera similar, al mismo borde de la cajeta para su acoplamiento en borde, en lugar de un acoplamiento en cara.

Se ha contemplado también que el método anteriormente divulgado pueda ser llevado a la práctica con una cajeta que no tenga fijada la tapa, excepto cuando está en funcionamiento, con lo que se elimina la necesidad de aberturas para la introducción de muestra, o de caras transparentes para el examen de los resultados de la separación.

Por otra parte, la presente invención puede ponerse en práctica con una cajeta que es acoplada pero que no incluye un sustrato (por ejemplo, utilizando cajetas de las Figuras 4A-C). De esta forma, el método divulgado se modificará para incorporar las etapas de carga y descarga del sustrato al interior de la cajeta y fuera de esta. No es necesario que la cajeta que se utiliza en esta realización sea fácilmente desprendible del aparato, excepto porque preferiblemente lo sea para no impedir el mantenimiento del aparato. A diferencia del primer método que se ha descrito anteriormente, la forma como el sustrato es cargado dentro de la cajeta es ahora especialmente importante, particularmente para un funcionamiento automatizado.

En el caso de que se utilice la cajeta mostrada en la Figura 4A, el método implica las etapas de (1) colocar la muestra sobre el sustrato; (2) colocar el sustrato sobre el cuerpo de la cajeta abierta, con la cubierta levantada y el cuerpo acoplado; (3) hacer descender la cubierta para cerrar la cajeta de una manera estanca al fluido; (4) suministrar y extraer fluidos y tensiones a la cajeta y desde esta para llevar a cabo la separación y el tratamiento ulterior a la separación; (5) abrir la cajeta levantando la cubierta; (6) extraer el sustrato; (7) examinar los resultados de la separación; y (8) desechar el sustrato. Se ha contemplado también que la cubierta 12 pueda ser previamente cargada con el sustrato 22, en cuyo caso el método se modificará en correspondencia y la cubierta podrá ser reutilizada una vez completado el procedimiento.

Si se utiliza la cajeta mostrada en la Figura 4B, el método se variará para tener en cuenta el hecho de que el sustrato está situado en la sección del lado desechable de la cajeta. Si se utiliza la cajeta mostrada en la Figura 4C, entonces el sustrato es cargado, preferiblemente, antes de que se coloque dentro de la cajeta.

Si bien las cajetas anteriores hacen posible un segundo conjunto de depósitos para llevar a efecto la separación 2D, se ha contemplado también que la separación 2D pueda efectuarse utilizando una cajeta 1D. En esta realización, el método se modificará de manera que incluya las siguientes etapas: (1) colocar la muestra sobre el sustrato, (2) cargar el sustrato dentro de la cajeta 1D, abierta y previamente acoplada, (3) cerrar la cajeta de una manera estanca al fluido, (4) suministrar y extraer fluidos y tensiones a la cajeta y desde esta para llevar a cabo la separación en la primera dimensión, (5) separar las partes móviles apropiadas de la cajeta lo suficiente como para permitir la rotación del sustrato, (6) hacer rotar el sustrato noventa grados alrededor del eje Z que pasa por su centro, (7) juntar las partes móviles apropiadas de la cajeta de una manera estanca al fluido, (8) suministrar y extraer fluidos y tensiones a la cajeta y desde esta para llevar a cabo la separación en la segunda dimensión y el tratamiento ulterior a la separación, (9) abrir la cajeta, (10) extraer el sustrato, (11) examinar los resultados de la separación, y (12) desechar el sustrato. Por supuesto, el método puede ser modificado para que utilice dos cajetas 1D en línea que estén orientadas ortogonalmente una con respecto a la otra (en la dirección Z). En esta realización, el sustrato será trasladado de una cajeta a la otra una vez completada la primera separación. El tratamiento ulterior puede llevarse a cabo bien en la segunda cajeta 1D o bien en una tercera cajeta que incluye solamente un depósito de sustrato (ni depósito de solución amortiguadora ni electrodos), si se desea.

En los diversos métodos que se han descrito anteriormente, pueden utilizarse cualesquiera medios adecuados para

colocar el sustrato 22 o la sección lateral desprendible (Figura 4B), o la sección de fondo (Figura 4C), incluyendo (1) un conjunto de rodillos, preferiblemente con el conjunto de accionamiento dispuesto en el cuerpo y el conjunto de libre movimiento dispuesto en la cubierta; (2) remplazar el soporte 24 de sustrato situado por encima del sumidero de calor 60 por una cinta transportadora aislante de la electricidad; o (3) hacer que un brazo de colocación externo mueva el sustrato 22 hasta su posición, y a continuación retirarlo. Alternativamente, el sustrato 22 puede ser transportado a lo largo del eje Y de una forma continua, ya sea en un rollo o en pliegues en abanico, en uno de los lados de la cajeta, y ser aceptado en el otro lado. En esta realización, una vez que el sustrato está situado apropiadamente, el transporte del sustrato se detiene y se tira de esa sección o tramo del rollo o pliegue en abanico de sustrato hasta introducirla en la cajeta, hasta que se ha completado la separación. Para la disposición de cajeta que se ha mostrado en la Figura 4C, un sustrato 22 (o secciones laterales / de fondo desprendibles) puede ser fácilmente trasladado horizontalmente sin que se interponga ninguna lumbrera para fluido ni conexión eléctrica. Si, como se describe más adelante, se apilan cajetas unas encima de otras, el sustrato 22 (o secciones laterales / de fondo desprendibles) puede ser cargado dentro de cada cajeta sin que las otras cajetas ni su acoplamiento se interpongan en el camino.

En algunas realizaciones del aparato de acuerdo con la presente invención, la cajeta puede ser insertada de forma floja o suelta dentro de un receptáculo y el aparato, en lugar del operario, automáticamente la acopla a los colectores de fluido y eléctrico con el fin de garantizar un acoplamiento adecuado y un menor desgaste en los puntos de contacto. Opcionalmente, al comienzo de cada operación, el aparato bloquea, en primer lugar, la cajeta en su lugar y, seguidamente, comprueba cada depósito y cada lumbrera en busca de fugas, y cada conexión eléctrica en busca de discontinuidades y cortocircuitos. Si se detecta un fallo, el aparato activa un aviso visual y/o audible, desbloquea la cajeta e interrumpe la operación. Cada etapa operativa puede ser iniciada por el operario en el instante apropiado o, preferiblemente, todo el orden y la regulación temporal de las etapas está programada en el aparato por adelantado y se pone en funcionamiento una vez que se selecciona el protocolo de separación y se inicia la operación.

Todos los métodos que se han descrito anteriormente son aplicables a múltiples cajetas acopladas en paralelo, cada una de las cuales utiliza un conjunto independiente de colectores de fluido y eléctricos para conectarse al aparato. De esta manera, cada separación se desarrolla independientemente de las demás, y una cajeta puede ser acoplada, y su funcionamiento iniciado, mientras otra cajeta se encuentra ya en funcionamiento.

También, los métodos que se han descrito anteriormente son aplicables a separaciones llevadas a cabo utilizando múltiples cajetas interconectadas, de manera que todas las cajetas utilizan un único conjunto de colectores de fluido y eléctrico. Por ejemplo, las cajetas pueden ser apiladas unas encima de otras, de manera que las conexiones entre ellas se hacen estancas al fluido. La pila de cajetas es, en esencia, una única cajeta de múltiples sustratos, y todas las etapas operativas se producen simultáneamente para todos los sustratos presentes en la pila. Debido a que el flujo de aire que pasa por cada sumidero de calor se reduce, puede ser deseable un flujo de aire forzado desde un ventilador o soplante. En el caso de que se utilicen cajetas previamente cargadas, las cajetas son desconectadas unas de otras después de cada operación, y la operación se repite cada vez con un nuevo conjunto de cajetas. Preferiblemente, la pila de cajetas es permanente y se carga un sustrato, con una muestra en él, dentro de cada cajeta al comienzo de cada operación según se ha descrito anteriormente.

Las realizaciones de cajeta que se han descrito anteriormente pueden ser fácilmente modificadas para permitir el apilamiento según se ha descrito en el párrafo anterior. Haciendo referencia a las Figuras 1 a 5, cada uno de los electrodos 20 se ha hecho para conectarse a un contacto eléctrico adicional, sobre la cubierta 12, alineado con el contacto eléctrico ya descrito existente en el cuerpo 14, de tal modo que existe continuidad eléctrica cuando se apilan múltiples cajetas unas encima de otras. También puede utilizarse la cajeta de la Figura 3 cuando se hacen funcionar múltiples cajetas horizontalmente, lo que no requiere ninguna modificación de la disposición de lumbreras para fluido. Cuando las cajetas son apiladas, las lumbreras de venteo de una cajeta se acoplan con las lumbreras de alimentación / escape de la cajeta situada por encima, con la excepción de la cajeta de debajo o inferior, que se acopla directamente en del aparato, y la cajeta superior, que ventea directamente al exterior. La pila de cajetas tiene, de esta forma, sus depósitos conectados en serie. Por otra parte, la cajeta de la Figura 5 puede ser utilizada de manera que múltiples cajetas se acoplan verticalmente, lo que requiere, por lo demás, que las lumbreras de alimentación / escape, así como las lumbreras de venteo, se prolonguen de manera que atraviesen toda la cajeta, de una a otra cara. Cuando las cajetas son apiladas verticalmente unas en contacto con otras, con la cubierta de una cajeta apoyada contra el cuerpo de la cajeta adyacente, cada conjunto de lumbreras de alimentación / escape y cada conjunto de lumbreras de venteo forman un canal continuo a través de toda la pila. La primera cajeta se acopla directamente en el aparato, y la última cajeta es seguida por una cubierta que pone fin a los canales continuos. La pila de cajetas tiene, de esta forma, sus depósitos conectados en paralelo. Las cajetas modificadas de esta manera pueden también funcionar horizontalmente, apiladas unas encima de otras de un modo similar.

En todas las realizaciones de cajeta anteriormente descritas, es también posible apilar múltiples sustratos, cada uno de ellos con una muestra ya dispuesta en él, unos directamente encima de otros, y a continuación simplemente insertar la pila de sustratos dentro de una única cajeta, en lugar de utilizar una cajeta independiente para cada sustrato, según se ha descrito en los dos párrafos precedentes. Sin embargo, semejante disposición es menos deseable por dos razones: (1) la saturación de cada sustrato de la pila con solución amortiguadora u otro líquido se

ve ralentizada a menos que el sustrato se mantenga separado con el fin de permitir que el líquido fluya entre sustratos, y (2) la necesidad de disipar el calor se incrementa con el número de sustratos, ya que la transferencia de calor a través de la pila de sustratos es muy ineficiente.

Los métodos descritos en lo anterior resultan especialmente apropiados para el funcionamiento rápido y automatizado de grandes números de cajetas o sustratos, secuencial o simultáneamente, o en cualquier combinación de ambas posibilidades. Las cajetas y sustratos destinados a un funcionamiento automatizado incorporan, preferiblemente, un identificador tal como un código de barras. Las cajetas previamente cargadas se suministran, una de cada vez, desde un bote de almacenamiento a una pipeta robotizada que coloca una muestra en cada sustrato. La cajeta es entonces desplazada hasta su posición y acoplada. Se llevan a cabo la separación y el tratamiento ulterior a la separación y, a continuación, la cajeta es desacoplada y transferida a través de un sistema de lectura y análisis automatizado. Una vez completado el análisis, la cajeta es desechada o reciclada. Para un uso con cajetas descargadas y preacopladas, los sustratos se aplican, uno de cada vez, desde un bote de almacenamiento a una pipeta robotizada que coloca una muestra en cada sustrato. El sustrato es entonces desplazado hasta su posición y cargado dentro de una cajeta preacoplada, abierta, y la cajeta se cierra. Se llevan a cabo la separación y el tratamiento ulterior a la separación, y a continuación la cajeta se abre y el sustrato es descargado. El sustrato se transfiere a través de un sistema de lectura y análisis automatizado, tras lo cual el sustrato es desechado.

La técnica de Haber utiliza, por lo común, menos de seis milímetros de cada solución amortiguadora en una separación 2D practicada en un sustrato de 8 cm x 8 cm, de manera que cada separación 2D lleva menos de 20 minutos (incluyendo el manchado con pigmento). Si se utiliza un aparato de acuerdo con la presente invención que da acomodo a diez pilas de diez cajetas cada una, entonces pueden llevarse a cabo trescientas separaciones 2D automáticamente en una hora utilizando menos de dos litros de cada solución amortiguadora. Puesto que cada separación requiere menos de un 1 mA de corriente, un centenar de separaciones simultáneas requieren no más de 100 mA, lo que las fuentes de suministro de energía de los laboratorios convencionales son capaces de manejar fácilmente.

Cada cajeta o pila de múltiples cajetas se conecta al aparato a través de un conjunto de colectores de líquido, de gas y eléctrico que son controlados por el aparato. La Figura 8 representa esquemáticamente una realización del aparato 500 con los colectores de líquido, de gas y eléctrico, 100, 102, 502, las fuentes de alimentación asociadas 504, 506, 508, y un controlador 510. También se ha mostrado una estación de acoplamiento 512 que recibe una cajeta 10.

Haciendo referencia a la Figura 6A, se muestra en ella un realización de un colector 100 de líquido y de un colector 102 de gas. Las lumbreras de alimentación / escape 30 y 48 y las lumbreras de venteo 28 y 32 existentes en la cajeta 200 se han numerado, para propósitos ilustrativos, como en las Figuras 3 y 5. En el caso de que algunas de las lumbreras de la cajeta 200 estén conectadas internamente y/o de que el depósito 46 de sustrato esté ausente, entonces algunas de las lumbreras y válvulas mostradas en la Figura 6A no son necesarias. También, si la cajeta está únicamente destinada a la separación 2D, tan solo son necesarias dos lumbreras de alimentación / escape 30 / lumbreras de venteo 32 del depósito de solución amortiguadora.

Como se muestra en la Figura 6A, el colector 100 de líquido incluye unos primer y segundo conjuntos de válvulas 104, 106, respectivamente, que controlan el flujo de líquidos entre el aparato y la cajeta. Más particularmente, cada una de las válvulas 104 del primer conjunto controla un líquido diferente procedente de un depósito o fuente de suministro, tal como un primer recipiente de solución amortiguadora (lumbrera 112), un segundo recipiente de solución amortiguadora (lumbrera 114), un recipiente de solución de lavado (lumbrera 116), un recipiente de desecho líquido (lumbrera 118) o un recipiente de solución de pigmento para manchado (lumbrera 120). El segundo conjunto de válvulas 106 selecciona si el aparato se conecta a la lumbrera de alimentación / escape del depósito 46 de sustrato (lumbrera 48), a los depósitos 16 de solución amortiguadora de la primera dimensión (las dos primeras lumbreras 30), o a los depósitos 16 de solución amortiguadora de la segunda dimensión (las dos segundas lumbreras 30). La disposición mostrada en la Figura 6A para el colector 100 de líquido puede ser modificada para tener en cuenta el hecho de que no todos los caminos o recorridos de líquido son útiles para un procedimiento dado. Por ejemplo, puede no ser necesario suministrar la primera solución amortiguadora a los depósitos 16 de solución amortiguadora de la segunda dimensión, o bien puede ser necesario suministrar la solución de pigmento para manchado únicamente al depósito 46 de sustrato. El encaminamiento del fluido puede ser simplificado de la manera apropiada para conseguir esto.

Debe resultar claramente evidente que el colector 100 de líquido puede conectarse a más de un recipiente de cada fuente de suministro con el fin de proporcionar un suministro ininterrumpido del líquido necesario. Pueden utilizarse otros tipos de líquidos según se desee o sea necesario. En consecuencia, esta disposición de colector permite que diferentes tipos de muestras (por ejemplo, proteínas y ácidos nucleicos) que requieren diferentes sustratos y/o soluciones amortiguadoras y/o tratamiento ulterior a la separación, sean separadas sin tener que segregarlas y cambiar los recipientes. Mediante el uso de indicios o indicaciones de identificación adecuadas en cada cajeta o sustrato, el aparato puede ser programado para conmutar o cambiar los protocolos de separación automáticamente cuando se necesita un tipo diferente de separación para una muestra específica, o, para pequeños números de

separaciones, según lo ordene el operario.

Haciendo referencia, a continuación, al colector de gas, se utilizan unos tercer y cuarto conjuntos de válvulas, 108 y 110 respectivamente, para controlar el flujo de gas entre el aparato y la cajeta. Más concretamente, el tercer conjunto de válvulas 108 se utiliza para controlar si la cajeta 200 se conecta a una fuente de presurización (lumbrera 122) o a un sistema de recuperación de gas que bien esta presurizado (lumbrera 124) o bien se encuentra a la presión atmosférica (primera lumbrera 126), o directamente a la atmósfera (segunda lumbrera 126). El cuarto conjunto de válvulas 110 se utiliza para controlar si el aparato es conectado a la lumbrera de venteo del depósito 46 de sustrato (lumbrera 28), a los depósitos 16 de solución amortiguadora de la primera dimensión (las dos primeras lumbreras 32) o a los depósitos 16 de solución amortiguadora de la segunda dimensión (las dos segundas lumbreras 32). Por ejemplo, cuando se llena por primera vez el depósito 46 de sustrato con la primera solución amortiguadora, las lumbreras 48 y 112 son conectadas mediante la apertura de las correspondientes válvulas 104 y 106 (lado de suministro de líquido), y la lumbrera 28 es conectada bien a la lumbrera 124 o bien a la lumbrera 126, mediante la apertura de las válvulas correspondientes 108 y 110 (lado de venteo). Cuando el depósito 46 de sustrato está lleno, las válvulas correspondientes 104 y 106 son cerradas, mientras que las válvulas correspondientes 108 y 110 permanecen abiertas. Con el fin de desechar la primera solución amortiguadora procedente del depósito de sustrato 46, la válvula correspondiente 106 vuelve a abrirse y la válvula 104, correspondiente a la lumbrera 118 (desecho líquido) es abierta. Preferiblemente, durante cualquier separación, todas las válvulas del colector de gas se mantienen abiertas y únicamente las válvulas del colector de líquido que conectan los depósitos de solución amortiguadora operativos al aparato son cerradas. Por ejemplo, durante una separación en la primera dimensión, tanto el depósito 46 de sustrato como los depósitos 16 de solución amortiguadora de la segunda dimensión permanecen conectados al sistema de desecho de líquido (lumbrera 118) con el fin de evitar que se introduzca cualquier acumulación de solución amortiguadora en esos depósitos, proveniente de los depósitos 16 de la primera solución amortiguadora, a través del sustrato o de otra manera.

Los colectores 100 y 102 se modifican fácilmente para adaptarse a modalidades de suministro / escape y venteo más y menos complejas. Por ejemplo, si las aberturas de venteo de los depósitos 16, 46 se conectan, todas ellas, dentro de la cajeta 200, a una única lumbrera de venteo (por ejemplo, la lumbrera 28), entonces no hay necesidad de ninguno de los cuatro conjuntos de válvulas 110. En ese caso, si se desea la transferencia solución amortiguadora desde el depósito 46 de sustrato a los depósitos 16 de solución amortiguadora, se utiliza una nueva válvula 130, tal como se muestra en la Figura 6B. Como ejemplo del uso de esta disposición, si las válvulas 104 y 106 que conectan la lumbrera 112 con la lumbrera 48 se abren, la primera solución amortiguadora se introduce en el depósito 46 de sustrato, en tanto que el venteo tiene lugar cuando la válvula 130 y la válvula 108, que conectan la lumbrera 28 ya sea a la lumbrera 124 o a la lumbrera 126 (sistema de recuperación de gas), están también abiertas. Una vez que el depósito 46 está lleno, la válvula 104 correspondiente se cierra. Una vez que el sustrato se satura con la primera solución amortiguadora, la válvula 130 se cierra con el fin de permitir una presurización selectiva del depósito 46 de sustrato, las válvulas 106 que conectan la lumbrera 48 (depósito 46 de sustrato) a las dos primeras lumbreras 30 (depósitos 16 de solución amortiguadora de la primera dimensión) se abren, y la válvula 108 que conecta la lumbrera 28 a la lumbrera 122 (sistema de presurización de gas) se abre. De esta manera, la presurización del depósito 16 transfiere cualquier cantidad de primera solución amortiguadora que quede en el depósito 46 de sustrato a los depósitos 16 de solución amortiguadora de la primera dimensión.

Todas las realizaciones de método anteriores pueden ser modificadas para permitir el uso de una solución amortiguadora diferente en cada depósito de solución amortiguadora operativo, al suministrar y expulsar cada solución amortiguadora a lo largo de toda la duración de cada etapa de separación, ya sea continuamente, ya sea de una forma intermitente o pulsante, para así mantener un gradiente de solución amortiguadora dentro del sustrato durante toda la etapa de separación. Esto puede hacerse expulsando solución amortiguadora a través de la lumbrera de "venteo" y no a través de la lumbrera de "alimentación / escape" de cada depósito de solución amortiguadora. Por ejemplo, para cada uno de los depósitos 16 de solución amortiguadora, el suministro de la solución amortiguadora tiene lugar a través de la lumbrera 30 y el escape tiene lugar a través de la lumbrera 32, o viceversa. Esta solución de flujo pasante para el suministro y el escape de líquidos hacia los diversos depósitos y desde estos es, por supuesto, aplicable incluso si se utiliza la misma solución amortiguadora en los dos depósitos de solución amortiguadora. Es el caso, por ejemplo, si la capacidad de los depósitos de solución amortiguadora se hace demasiado pequeña para mantener la separación completa y es necesario admitir solución amortiguadora nueva en el curso de la separación. Preferiblemente, el mismo sistema de desechos acepta desechos tanto líquidos como gaseosos, en cuyo caso no hay necesidad de modificar el colector 102 de "gas", y, en caso contrario, pueden incorporarse fácilmente una válvula y una lumbrera adicionales que se conectan a un recipiente de desecho líquido independiente, o bien una de las dos lumbreras 126 mostradas en la Figura 6A pueden utilizarse para ese propósito.

Unas válvulas de apertura-cierre 104, 106, 108 y 110 dispuestas en los colectores 100 y 102 pueden ser válvulas accionadas eléctricamente a escala subminiaturizada que se utilizan ampliamente en la cromatografía líquida y en otras aplicaciones. Por ejemplo, válvulas de solenoide eléctricas a escala subminiaturizada, susceptibles de ser montadas en el colector con una separación de centro a centro de 7 mm, accionadas por señales de control lógicas estándar y reguladas para al menos 250 millones de accionamientos, pueden obtenerse de la Lee Company (Westbrook, CT). Se ha contemplado también que el accionamiento de las válvulas pueda ser por sistemas mecánicos, neumáticos o hidráulicos convencionales. Se contemplado, de manera adicional, que cada conjunto de

válvulas de apertura-cierre puede ser reemplazado por una única válvula de múltiples lumbreras, rotativa o de otro tipo, o bien por bombas en miniatura accionadas eléctricamente. También, pueden incorporarse una o más válvulas 106 y/o 110 dentro de la propia cajeta (en lugar de en los colectores 100 y/o 102). El control de tales válvulas montadas en la cajeta es también, preferiblemente, proporcionado por el aparato.

5 El volumen de líquido aportado a cada depósito es, preferiblemente, controlado mediante la incorporación de válvulas de cierre de flotador en líquido en cada abertura de venteo, por la regulación temporal del estado de apertura de cada válvula y el cierre o interrupción del flujo basándose en el caudal de flujo, o bien mediante el uso de bombas o válvulas de medición convencionales en lugar de válvulas de apertura-cierre. Cada colector es, preferiblemente, del tipo de "formicario" [cultivo de hormigas] comúnmente utilizado, lo que permite un
10 empaquetamiento o agrupación compacta de las válvulas y reduce al mínimo el volumen muerto de líquido.

El colector eléctrico incorporado en el aparato incluye, preferiblemente, dos terminales eléctricos para la conexión a la fuente de suministro de tensión, y una conexión a tierra independiente opcional, un relé de estado sólido de alta tensión, 4 polos y doble tramo (o dos relés independientes de 2 polos y doble tramo) para conmutar la conexión de tensión entre los electrodos de las primera y segunda dimensiones, y un contacto eléctrico para cada electrodo.
15 Preferiblemente, el (los) relé(s) es/son accionado(s) por señales de control lógicas y es/son abierto(s) normalmente abierto con respecto a todos los electrodos. Alternativamente, pueden utilizarse dos fuentes de suministro de energía programables independientes, o bien una única fuente de suministro de energía programable de salida doble, en lugar del (de los) relé(s). Opcionalmente, el colector eléctrico puede también incluir unos contactos de diagnóstico que sirven para registrar la presencia de la cajeta, con un sistema de bloqueo mutuo de los aparatos que impide que las fuentes de suministro de fluido y de tensión se activen en el caso de que no esté presente una cajeta, o, alternativamente, registrar el tipo de cajeta (por ejemplo, 1D o 2D) que está acoplada con el sistema de control del
20 aparato.

Todas las realizaciones de cajeta que se han descrito anteriormente pueden ser modificadas de tal manera que uno o más de los recipientes de suministro / desechado de líquido son incorporados dentro de la propia cajeta (en lugar de ser incorporados dentro del aparato o conectados a él de otra manera). A modo de ilustración, haciendo referencia a la Figura 6A, si el recipiente de suministro de la primera solución amortiguadora se incorpora dentro de la cajeta 200, además de los cinco recipientes mostrados, entonces la lumbrera 112 del colector 100 de líquido se conecta a una lumbrera adicional correspondiente existente en la cajeta 200 (en lugar de, como se muestra, a un recipiente de suministro de la primera solución amortiguadora, incorporado dentro del aparato o conectado de otra manera a él). La lumbrera adicional estará equipada con una válvula de cierre que se abre con el acoplamiento.
25

Con las modificaciones que se han descrito en el párrafo precedente, la disposición de válvulas en el colector 100 así como el encaminamiento del líquido a través de este permanecen sin cambios, aparte de que la fuente / destino del líquido se encuentra en la cajeta en lugar de en el aparato. También, para uno o más de los recipientes de suministro / desechado que se han incorporado dentro de la cajeta, la válvula correspondiente 104 puede también ser incorporada en la cajeta conjuntamente con los canales de encaminamiento de líquido correspondientes y, como se ha descrito en lo anterior, una o más válvulas 106 y/o 110. A modo de ilustración, haciendo referencia a la Figura 6A, si el recipiente de suministro de la primera solución amortiguadora se incorpora dentro de la cajeta 200, entonces la válvula 104 asociada con la lumbrera 112 puede también ser incorporada dentro de la cajeta. Si los canales que conectan el recipiente de la primera solución amortiguadora a los depósitos 16 de solución amortiguadora son también incorporados dentro de la cajeta, con una válvula 106 en cada uno de esos canales, entonces el suministro / escape de la primera solución amortiguadora pasa a ser totalmente interno a la cajeta.
35

Pueden hacerse funcionar simultáneamente múltiples cajetas individuales a través de un único conjunto de colectores de líquido y de gas, sin apilamiento según se ha descrito anteriormente, simplemente interponiendo una conducción o línea de múltiples lumbreras entre las cajetas y cada colector, de tal manera que cada lumbrera de un colector se conecta en paralelo a múltiples lumbreras de acoplamiento de cajeta dispuestas en la línea. Con el fin de permitir el funcionamiento con un número de cajetas menor que el número de lumbreras de acoplamiento de cajeta existente en cada línea de múltiples lumbreras, cada lumbrera de acoplamiento de cajeta está equipada, preferiblemente, con una válvula de cierre que se abre únicamente cuando se ha acoplado en ella una cajeta. Por ejemplo, una de las lumbreras 48 del colector 100 de líquido puede conectarse a una línea que tiene diez lumbreras
45 48 de acoplamiento de cajeta en ella, cada una de las cuales está destinada a conectarse a un depósito 46 de sustrato de una cajeta diferente. Si solo se han acoplado dos cajetas, entonces ocho de las lumbreras 48 de acoplamiento de cajeta de la línea permanecen cerradas. Por lo que respecta a las conexiones eléctricas de esta disposición, cada contacto del colector eléctrico individual se conecta a un bus conductor de la electricidad al que está conectado el contacto eléctrico correspondiente de cada cajeta. Este tipo de disposición difiere de la disposición de apilamiento de cajetas en paralelo anteriormente descrita en que las conexiones de fluido y eléctricas entre las cajetas son ahora externas a las cajetas, pero su funcionamiento es, en cualquier otro respecto, el mismo.
50

Se ha contemplado también que cada etapa del procedimiento, es decir, la separación en la primera dimensión, la separación en la segunda dimensión y el tratamiento ulterior a la separación, tenga lugar en cadena, en lugares diferentes a lo largo del recorrido de un sustrato en rollo o en pliegues en abanico que se mueve de forma continua. La Figura 7 ilustra una representación esquemática de una realización de cajeta para uso con este método en
55

cadena. Unos electrodos 302 de la primera dimensión y unos depósitos 306, 308 de solución amortiguadora de la primera dimensión son perpendiculares al plano de la Figura, en tanto que unos electrodos 310 de la segunda dimensión y unos depósitos 312 de solución amortiguadora de la segunda dimensión (mostrados en líneas discontinuas) se encuentran por delante y por detrás del plano de la Figura.

5 Una muestra situada sobre el sustrato 320 pasa a través de las diversas secciones o tramos del procedimiento. El sustrato 320 entra en el depósito 306 de solución amortiguadora de la primera dimensión, donde el sustrato 320 es saturado con una primera solución amortiguadora. El sustrato 320 es transportado hasta una región de separación 330 en la primera dimensión. El sustrato es entonces transportado a través del depósito 308 de solución amortiguadora de la primera dimensión, al que sigue un depósito 340 de primer enjuague opcional. El sustrato es
10 entonces transferido a un depósito 350 de sustrato en el que el sustrato 320 es saturado con una segunda solución amortiguadora, y, a continuación, se hace pasar a través de los depósitos 312 de segunda solución amortiguadora, que contienen los electrodos 310 de la segunda dimensión y abarcan la región de separación 360 en la segunda dimensión. El transportador transporta el sustrato, opcionalmente, a través de un segundo depósito de lavado 370 y/o un depósito 380 de solución de pigmento, a los que sigue un tercer depósito de lavado 390 opcional. Por último,
15 si se desea, el sustrato puede ser transportado a través de una cámara de secado 400. En la variante de 1D (no mostrada), los electrodos 310 y los depósitos 312 de solución amortiguadora de la segunda dimensión, la región de separación 360 en la segunda dimensión y el segundo depósito de lavado 370 no son necesarios. Puede haberse incorporado un alojamiento 410 por debajo del transportador con el fin de recoger cualesquiera líquidos que se fuguen.

20 La Figura 7 muestra el sustrato desplazándose bajo unos rodillos 420 situados en el interior de cada depósito, que hacen que el sustrato se sumerja en el líquido contenido en ese depósito. No se ha mostrado una disposición en la región de separación 360 en la segunda dimensión, que hace que los bordes del sustrato 320 se doblen hacia abajo y se sumerjan en la solución amortiguadora contenida en los depósitos 312 de segunda solución amortiguadora, similar a la disposición mostrada en la Figura 1D. Los niveles de líquido se encuentran por debajo de la altura a la cual el sustrato 320 entra y sale de la cajeta (y pasa de un depósito al siguiente, dentro de la cajeta). No hay, por
25 tanto, necesidad de depósitos estancos al fluido, por lo que se simplifica la cajeta. Alternativamente, se obtiene una cajeta sustancialmente estanca al fluido colocando, en los contornos o límites entre depósitos y regiones dentro de la cajeta, y en los puntos de entrada y salida de la cajeta, unas hendiduras entre hojas flexibles, las cuales permiten el desplazamiento del sustrato 320 pero proporcionan una separación sustancialmente estanca al fluido entre las
30 diversas secciones de la cajeta y entre la cajeta y el exterior. En este caso, no hay necesidad de rodillos 420 dentro de cada depósito.

En la realización que se muestra en la Figura 7, los líquidos de los diversos depósitos son suministrados y extraídos en una corriente continua, y la tensión es aplicada continuamente a todos los electrodos. La velocidad del desplazamiento continuo del sustrato 320 se selecciona de forma tal, que el tiempo que le lleva a una muestra
35 concreta pasar entre los electrodos es igual al tiempo de separación deseado. Por ejemplo, si el rollo de sustrato tiene una anchura de 10 cm, todos los electrodos son de 10 cm de longitud y el tiempo de separación deseado es de 5 minutos, entonces el sustrato 320 se desplaza a la velocidad de 2 cm por minuto. Esta realización es, por tanto, capaz de llevar a cabo 12 separaciones 2D automatizadas cada hora (incluyendo el manchado con pigmento), de manera que las muestras son colocadas sobre el sustrato 320 mediante una pipeta robotizada situada por encima
40 de la cajeta. Para separaciones 1D, puede utilizarse una pipeta robotizada de múltiples puntas para colocar múltiples muestras simultáneamente a través de la anchura del sustrato. En el caso de que se utilice una pipeta robotizada de 8 puntas, esta variante 1D del método es capaz de llevar a cabo 96 separaciones automatizadas cada hora (incluyendo el manchado con pigmento). Los resultados de la separación pueden ser examinados en la línea o cadena mediante un dispositivo de lectura y análisis automatizado situado aguas abajo con respecto a la cajeta.

45 El aparato de la invención incluye una unidad de control electrónica que sirve para iniciar y terminar cada etapa del método de la invención, ya sea automáticamente, bajo el control computerizado de toda la secuencia de etapas (preferiblemente), ya sea por la acción del operario para cada etapa o serie de etapas. Las acciones proporcionadas por la unidad de control electrónica incluyen, por ejemplo, enviar un impulso o señal lógica de control a (1) una válvula de líquido, con el fin de abrirla, (2) un relé eléctrico, con el fin de conmutar la tensión de uno de los pares de
50 electrodos al otro, (3) un enganche para bloquear una cajeta durante la separación, (4) un mecanismo de colocación para buscar y recuperar los sustratos e insertarlos en las cajetas, o (5) un mecanismo que abre y cierra la cajeta. Un interfaz de usuario permite al operario iniciar y terminar una etapa o una serie de etapas manualmente, o bien, preferiblemente, programar y poner en marcha protocolos de separación completos (es decir, implementaciones de métodos particulares). Una computadora controla la unidad de control electrónica, además de la comunicación con
55 la interfaz de usuario, almacena protocolos de separación, códigos de barras u otra información de identificación para un lector, así como información de la muestra proporcionada por el operario o por un archivo de datos informáticos, y se comunica con dispositivos externos tales como dispositivos de apilamiento y de carga de cajetas / sustratos automatizados, pipetas robotizadas y sistemas de lectura y análisis automatizados que examinan los resultados de la separación. Alternativamente, la computadora puede haberse incorporado dentro de la unidad de
60 control electrónica. La computadora / unidad de control electrónica puede ser cualquier dispositivo convencional, tal como un microprocesador, un procesador de señales y dispositivos similares. La unidad de control y/o la computadora incluyen, preferiblemente, un medio de almacenamiento, tal como un disco duro, para almacenar el

protocolo operativo.

El aparato de la invención se ha construido, preferiblemente, para aceptar estaciones de acoplamiento modulares intercambiables que se enchufan en una base común. Como se ha explicado anteriormente, la estación de acoplamiento proporciona una interfaz entre una cajeta y el aparato para así permitir un fácil contacto o ensamblaje entre los dos. La estación de acoplamiento incluye, preferiblemente, colectores de fluido y un colector eléctrico destinados a actuar como interfaz entre las conexiones existentes en la cajeta y los colectores existentes en el aparato. La interfaz incluye una serie de elementos de conexión rápida automáticos que encajan con elementos de conexión complementarios dispuestos en la cajeta. Se encuentran fácilmente disponibles conexiones de fluido y eléctricas rápidas adecuadas. Los expertos de la técnica serán capaces de seleccionar conexiones apropiadas para transmitir fluidos y electricidad de acuerdo con la presente invención.

Puede ser deseable incorporar los colectores del aparato directamente dentro de la estación de acoplamiento, si bien dicha disposición no es la preferida. A la luz de los diferentes tipos de cajetas que pueden utilizarse, es deseable fabricar la estación de acoplamiento de tal manera que pueda aceptar una amplia variedad de tipos de cajetas. Puede haber, sin embargo, situaciones en las que una única estación de acoplamiento no pueda dar acomodo a todos los tipos de cajetas diferentes contemplados para uso en el aparato. De esta forma, se contempla también que puedan fabricarse diferentes estaciones de acoplamiento que puedan ser utilizadas en el aparato, de manera que cada estación de acoplamiento sea capaz por sí misma de actuar como interfaz con un conjunto diferente de tipos de cajetas. De esta forma, una misma estación de acoplamiento puede aceptar cajetas de 10 cm así como cajetas de 20 cm si la disposición de las lumbreras y los contactos es la misma para ambos tipos de cajetas. Alternativamente, cada tipo de cajeta puede requerir un tipo diferente de estación de acoplamiento. Por supuesto, como los tipos de cajetas pueden diferir en el número de lumbreras y/o de contactos, por ejemplo, una cajeta 1D tendrá un menor número de puertas y de contactos que una cajeta 2D, puede resultar más económico fabricar una estación de acoplamiento 1D de manera que incluya el mínimo número de contactos y de válvulas que se requieran para el acoplamiento con una cajeta 1D. Esto reduce el coste de la estación de acoplamiento. También, las cajetas de acoplamiento de borde y las cajetas de acoplamiento de cara pueden requerir diferentes tipos de estaciones de acoplamiento (o bien una estación de acoplamiento que pueda aceptar ambos tipos de cajetas).

En semejante disposición modular, es importante que el controlador del aparato sea capaz de identificar el tipo de estación (estaciones) de acoplamiento emplazada(s) y, para esa(s) estación (estaciones) de acoplamiento, el (los) tipo(s) de cajeta(s) que está(n) acoplada(s). Esto permite al aparato "activar" y "desactivar" ciertas líneas o conducciones de fluido y líneas eléctricas, dependiendo de la cajeta y/o la estación de acoplamiento que se esté utilizando. Un sistema que se contempla para llevar esto a cabo consiste en proporcionar a cada cajeta y a cada estación de acoplamiento un identificador específico. El identificador puede ser cualquier sistema convencional que se utilice para identificar un componente, tal como un conjunto de patillas y puentes móviles, un código de barras o un chip de computadora. El aparato (o estación de acoplamiento) incluye un lector que explora el identificador (en el caso de identificadores legibles), una interfaz eléctrica que se comunica con el identificador en el caso de patillas o chips), o cualquier otro tipo de sistema de identificación que proporcione una señal indicativa al identificador, por ejemplo, un sistema de accionamiento mecánico. El controlador recibe la señal indicativa del identificador y determina qué estación de acoplamiento y cajeta está / están en uso (por comparación del identificador con valores almacenados). Los protocolos operativos que son compatibles con la combinación particular de cajeta / estación de acoplamiento son entonces seleccionados por el controlador. De esta manera, un mismo aparato puede dar acomodo a múltiples tipos de cajetas y de estaciones de carga sin necesidad de reprogramación. También, si el aparato es capaz de poner en juego múltiples cajetas al mismo tiempo, la presente invención permite al aparato asociar diferentes protocolos para diferentes estaciones de acoplamiento de forma automática. Se ha contemplado también que la identificación pueda ser proporcionada por una señal transmitida, tal como una señal de RF [radiofrecuencia] o de IR [infrarrojos], que es proporcionada al aparato automáticamente por la estación de acoplamiento cuando esta se conecta al aparato (o bien de forma automática por la estación de acoplamiento cuando se inserta una cajeta).

El controlador recibe la señal y selecciona el (los) conjunto(s) apropiado(s) de protocolos asociado(s) con la estación de acoplamiento / cajeta.

Similarmente, se ha contemplado también que los recipientes de suministro / desechado de fluido puedan incluir, ventajosamente, un identificador que permita al controlador determinar qué tipo de fluido está asociado con una línea o conducción de suministro / desechado de fluido particular, de tal manera que el controlador pueda accionar las válvulas apropiadas con el fin de aportar el fluido deseado, sin que se requiera que un recipiente particular sea fijado a una línea particular. Esta realización de la invención elimina la necesidad de que las válvulas de la Figura 6A estén asociadas con fuentes de suministro de fluido particulares. En lugar de eso, las válvulas estarán, todas ellas, inactivas hasta que se conecte un recipiente. En este instante, el controlador recibirá una señal indicativa del identificador asociado con el recipiente. El controlador seleccionará entonces un protocolo de accionamiento de válvulas para controlar los primer y segundo conjuntos de válvulas 104, 106 de fluido, a la luz de dónde está situada la fuente de suministro de fluido. Este aspecto de la invención también permite el uso de múltiples fuentes de suministro de un mismo líquido, lo que permite al controlador seleccionar qué fuente se ha de utilizar. Por ejemplo, pueden conectarse diversos recipientes de solución amortiguadora a múltiples válvulas. El controlador seleccionará

un recipiente para que funcione como la fuente de suministro de solución amortiguadora. Cuando ese recipiente deja salir la solución amortiguadora, el controlador puede automáticamente conmutar o pasar al segundo recipiente como fuente de suministro de solución amortiguadora (y, al mismo tiempo, proporcionar una señal visual o audible al operario indicando que el primer recipiente de solución amortiguadora está vacío).

5 La capacidad modular de la presente invención no está limitada a la estación de acoplamiento, las cajetas y los recipientes de fluido. Se ha contemplado asimismo la posibilidad de que los colectores sean también modulares con el fin de permitir el uso de diferentes disposiciones de colectores en el aparato. Al igual que con los otros componentes modulares, los conectores incluirán un identificador o dispositivo de identificación que permita el controlador identificar el colector concreto. De esta forma, pueden utilizarse colectores con diferentes disposiciones
10 de válvulas y que tienen diferentes números de conductos para suministrar / dispensar fluido, o diferentes números de colores (para casos en que se están añadiendo al sistema estaciones de acoplamiento adicionales).

El sistema modular que se ha descrito anteriormente proporciona un sistema muy versátil y robusto que es capaz de crecer a medida que evolucionan los procedimientos electroforéticos.

15 Las técnicas de identificación anteriormente descritas para los diversos sistemas modulares no están limitadas por la estructura del aparato y cajeta, sino que incluyen también la novedosa invención de un sustrato de electroforesis que incluye un identificador. Al igual que con las realizaciones anteriormente descritas, un identificador incorporado dentro del sustrato o asociado con este puede ayudar a definir los parámetros de programa apropiados para ser utilizados a la hora de controlar el procedimiento electroforético. Cuando el sustrato es recibido ya sea por la cajeta, ya sea por el aparato, la cajeta o el aparato detecta o recibe de otra manera información relacionada con el sustrato,
20 que es entonces utilizada por la cajeta / el aparato para programar y/o controlar ciertas etapas del procedimiento de electroforesis.

A modo de ejemplo, y en ningún modo como limitación, el identificador puede proporcionar información relativa al sustrato, tal como el tipo, la forma y/o el espesor del sustrato. Alternativa o adicionalmente, el identificador puede proporcionar información relativa al tipo y al número de muestras que se ensayan (por ejemplo, el número y/o la posición de los pozos activos, el tipo de muestra contenida en cada pozo). Se ha contemplado, de manera adicional,
25 que el identificador pueda proporcionar información sobre el tipo de procedimiento electroforético que se va poner en práctica (por ejemplo, 1D o 2D). La información recibida puede entonces ser utilizada para particularizar o adaptar el procedimiento electroforético al sustrato particular.

En aún otra realización, la identificación del sustrato puede ser utilizada para seleccionar el tipo de sustrato apropiado para ser utilizado en la muestra que se está ensayando. Por ejemplo, si la muestra es un ácido nucleico, se seleccionará un sustrato de nilón para ser utilizado. El tipo de sustrato puede utilizarse también para seleccionar la solución amortiguadora apropiada y/o los depósitos que están activos.

Se contempla también que los dispositivos de identificación puedan ser cualquiera de un cierto número de tipos diferentes de dispositivos. Por ejemplo, el identificador puede consistir en un pigmento situado en una porción del sustrato, que es descubierto o de otro modo detectado por el aparato / cajeta. Alternativamente, el identificador puede ser un código de identificación (por ejemplo, un código de barras, un diseño o motivo, etc.), una configuración de patillas específica, una forma y/o configuración prescritas del sustrato, un respaldo o armazón (por ejemplo, una forma de cruz o una anomalía superficial), un chip de memoria informática u otros medios de identificación. Se ha contemplado que los dispositivos de identificación puedan ser dispuestos en, o dentro de, el sustrato o un respaldo o armazón que soporta el sustrato. Los expertos de la técnica apreciarán claramente que los diversos dispositivos de identificación (tanto pasivos como activos) que pueden ser utilizados ya sea con el sustrato, ya sea con el respaldo o armazón del sustrato, a la luz de las enseñanzas proporcionadas en la presente memoria.

En una realización, cuando el sustrato se coloca dentro de una cajeta, la cajeta lee, recibe o detecta / descubre el identificador del sustrato y proporciona la información al aparato y/o al controlador de computadora. El aparato y/o el controlador utilizan esa información para configurar el procedimiento de electroforesis (por ejemplo, la longitud / tipo de programa, el tipo de solución amortiguadora, etc.). Alternativamente, el aparato / controlador puede leer / detectar la información procedente del identificador del sustrato directamente desde el sustrato o desde su respaldo o armazón.
45

Como se ha explicado anteriormente, se contempla que el propio sustrato pueda ser particularizado o adaptado específicamente para funcionar con la cajeta de un sistema de electroforesis. Por ejemplo, como se ha descrito anteriormente, el propio sustrato puede haberse conformado con forma de cruz, de manera que las "patas" del sustrato se extienden al interior de los depósitos. Esta forma es beneficiosa por varias razones. En primer lugar, minimiza la cantidad de material del sustrato (por ejemplo, gel) que se necesita. En segundo lugar, las esquinas eliminadas permiten que las lumbreras y los drenajes que forman parte de la cajeta pasen de la parte superior a la parte inferior de la cajeta sin interferir o interponerse con el sustrato. Configuraciones de sustrato alternativas incluyen sustratos con muescas y recortes. Los recortes pueden haberse formado en las esquinas, en los bordes o en cualquier otro lugar que no afecte adversamente al procedimiento heterofórico en el sustrato.
55

Se ha contemplado también la posibilidad de utilizar una combinación de sustrato y respaldo para montarla en la

- 5 cajeta. Por ejemplo, haciendo referencia a la Figura 4C, el sustrato 22 puede comercializarse o proveerse en combinación con un respaldo que incluye el soporte 24 de sustrato, el elemento de obturación de junta de estanqueidad 68 y un conductor térmico 60, tal como el sumidero de calor (aletas de refrigeración). El soporte de sustrato está hecho, preferiblemente, de, o incluye, un aislante eléctrico para evitar o inhibir la conducción eléctrica entre la solución amortiguadora y/o el gel y el conductor térmico. Alternativamente, puede incorporarse una capa aislante de la electricidad independiente en el soporte de sustrato o en el conductor térmico. El sustrato y el respaldo se configurarán para encajar con una abertura existente en la base 14 de la cajeta, o ser recibidos dentro de esta. Se utilizará un enganche u otro mecanismo de aseguramiento convencional para fijar el respaldo a la base 14.
- 10 La presente invención podrá ser realizada en otras formas específicas y, de acuerdo con ello, deberá hacerse referencia a las reivindicaciones que se acompañan, en lugar de a la memoria anterior, como indicativas del alcance de la invención.

REIVINDICACIONES

1.- Una cajeta (10) destinada a acoplarse con una estación de acoplamiento existente en un aparato de electroforesis, de manera que la cajeta comprende:

un alojamiento, que tiene una parte superior (12) y una parte inferior (14);

5 un soporte (24) de sustrato situado dentro del alojamiento, entre las partes superior e inferior (12, 14), de tal modo que el soporte (24) de sustrato está configurado para recibir un sustrato de electroforesis (22);

al menos dos electrodos (20), situados dentro del alojamiento, en lados opuestos del soporte (24) de sustrato; y

10 al menos un contacto eléctrico, situado en una superficie externa del alojamiento y conectado eléctricamente a al menos uno de los electrodos (20) con el fin de permitir el paso de corriente entre el contacto eléctrico y el electrodo;

15 caracterizada por al menos dos depósitos (16) de líquido, proporcionados dentro del alojamiento, entre las partes superior e inferior (12, 14), para albergar una solución tampón o amortiguadora líquida, y cada uno de ellos capaz de estar en contacto con una sección de un sustrato de electroforesis (22); de tal modo que cada depósito (16) de líquido contiene un electrodo (20) y está formado en el alojamiento, a cada lado del soporte (24) de sustrato, y por unos accesos o lumbreras (30) para líquido, formadas en el alojamiento y que se extienden hasta una superficie externa de la cajeta (10), de tal manera que las lumbreras están en comunicación de fluido con los depósitos (16) para conectar cada depósito (16) con una fuente de suministro de solución amortiguadora y un recipiente de desecho, a fin de suministrar y extraer líquidos hacia, y desde, la cajeta (10).

20 2.- La cajeta (10) de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende adicionalmente un sustrato electroforético (22), dispuesto sobre el soporte (24) de sustrato, de tal manera que el sustrato incluye al menos dos extremos opuestos, de forma que cada extremo se extiende al interior de uno de los depósitos (16) de líquido.

3.- La cajeta (10) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la cual existe al menos otra lumbrera (32), configurada para canalizar gas al interior y/o al exterior del alojamiento.

25 4.- La cajeta (10) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la parte superior (12) está separada del soporte (24) de sustrato para así definir un depósito (46) de sustrato sobre el soporte (24) de sustrato, y en la cual existe una lumbrera adicional (28) formada en el alojamiento y que se extiende hasta una superficie exterior del alojamiento, la cual permite el paso de fluido al interior y al exterior del depósito (46) de sustrato.

30 5.- La cajeta (10) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la cual al menos una porción de la parte superior (12) es movable con respecto al soporte (24) de sustrato cuando la parte superior (12) se acopla o contacta con la parte inferior (14).

35 6.- La cajeta (10) de acuerdo con la reivindicación 6, en la que la porción de la parte superior que es movable es una cubierta (12) que abarca o se extiende sobre al menos una porción del soporte (24) de sustrato con el fin de permitir el acceso al soporte (24) de sustrato; y en la cual la cubierta está fijada articuladamente al alojamiento.

7.- La cajeta (10) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la cual las lumbreras (30) para líquido y el (los) contacto(s) eléctrico(s) (20) están situados en la misma superficie del alojamiento.

8.- La cajeta (10) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la cual el sustrato (24) de soporte está fijado de forma desmontable o extraíble al alojamiento.

40 9.- Un método para llevar a cabo electroforesis que comprende las etapas de:

proporcionar una cajeta (10) destinada a acoplarse con una estación de acoplamiento existente en un aparato de electroforesis, la cual comprende un alojamiento que tiene una parte superior (12) y una parte inferior (14), un soporte (24) de sustrato, situado entre la parte superior (12) y la parte inferior (14), un sustrato de electroforesis (22), dispuesto sobre el soporte y que tiene unos extremos opuestos, unos accesos o lumbreras (30) para líquido, que se extienden dentro de la cajeta (10), al menos dos electrodos (20), situados dentro de la cajeta (10), en lados opuestos del soporte (24) de sustrato, al menos un contacto eléctrico, situado en una superficie externa del alojamiento y que está conectado eléctricamente a al menos uno de los electrodos (20) con el fin de permitir el paso de corriente entre el contacto eléctrico y el electrodo (20), y dos depósitos (16) de líquido, proporcionados en el interior del alojamiento, entre las partes superior e inferior (12, 14), para albergar una solución tampón o amortiguadora líquida, y cada uno de ellos capaz de estar en contacto con una sección del sustrato de electroforesis (22), de tal manera que cada depósito (16) de líquido contiene uno de los al menos dos electrodos (20) y está formado en el alojamiento, a cada lado del sustrato (24) de soporte, de tal modo que cada extremo del sustrato de electroforesis (22) se extiende dentro de uno de los depósitos (16) de líquido;

- 5 proporcionar un aparato de electroforesis que tiene una estación de acoplamiento (512) para recibir una cajeta (10), una fuente de suministro (504) de solución amortiguadora líquida, un recipiente de desecho y una fuente de alimentación de energía (508), de tal manera que las lumbreras (30) están en comunicación de fluido con los depósitos (16) y conectan cada depósito a la fuente de suministro (504) de solución amortiguadora y al recipiente de desecho;
- acoplar la cajeta (10) en la estación de acoplamiento (512) del aparato de tal manera que la fuente de suministro (504) de solución amortiguadora líquida y el recipiente de desecho están en comunicación de fluido con las lumbreras (30), y de modo que la fuente de alimentación de energía (508) se encuentra en comunicación eléctrica con al menos dos de los electrodos (20) a través del al menos un contacto eléctrico;
- 10 colocar una muestra que se ha de ensayar sobre el sustrato (22);
- suministrar solución amortiguadora desde la fuente de suministro (504) de solución amortiguadora existente dentro del aparato, a las lumbreras (30);
- saturar el sustrato (22) con la solución amortiguadora;
- suministrar energía desde el aparato a al menos dos de los electrodos (20) para producir la separación;
- 15 suprimir la energía de los electrodos (20);
- canalizar la solución amortiguadora utilizada desde la cajeta (10) hasta el recipiente de desecho existente en el aparato; y
- analizar la separación del sustrato.
- 10.- Un método de acuerdo con la reivindicación 9, de tal manera que, antes de la etapa de analizar la separación del sustrato, el método comprende las etapas de:
- 20 suministrar una segunda solución amortiguadora desde el aparato a la cajeta (10);
- saturar el sustrato (22) con la segunda solución amortiguadora;
- suministrar energía desde el aparato a al menos dos de los electrodos (20) para producir una segunda separación;
- 25 suprimir la energía de los electrodos (20); y
- canalizar la solución amortiguadora utilizada desde la cajeta (10) hasta el recipiente de desecho existente en el aparato.
- 11.- Un método de acuerdo con la reivindicación 9 o la reivindicación 10, en el cual el aparato incluye un sistema de identificación, de tal manera que el método comprende las etapas de:
- 30 utilizar el sistema de identificación para recibir información desde un dispositivo de identificación asociado con el sustrato (22) o con la cajeta (10); y
- controlar el análisis de electroforesis basándose en la información recibida.
- 12.- Un método de acuerdo con la reivindicación 11, en el cual la etapa de controlar el análisis de electroforesis implica seleccionar una solución amortiguadora basándose en el tipo de sustrato (22) presente en la cajeta (10).
- 35 13.- Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 y 12, en el cual la etapa de saturar el sustrato (22) implica canalizar la solución amortiguadora al interior de los depósitos (16) y al interior del sustrato (22).
- 14.- Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, en el cual el aparato incluye múltiples estaciones de acoplamiento (512), cada una de ellas configurada para recibir una cajeta (10), y de manera que el método comprende, adicionalmente, las etapas de acoplar cajetas adicionales (10), cada una de ellas en una estación de acoplamiento (512) independiente y con sus propios sustrato (22) y muestra específicos, y producir una separación electroforética de la muestra en cada sustrato (22).
- 40 15.- Un aparato de electroforesis que comprende:
- una estación de acoplamiento (512) destinada a recibir una cajeta (10) que comprende un alojamiento que tiene una parte superior (12) y una parte inferior (14), y al menos un contacto eléctrico situado en una superficie externa del alojamiento;
- 45 al menos un contacto eléctrico situado en la estación de acoplamiento (512), de tal manera que el contacto

eléctrico es susceptible de conectarse eléctricamente a una fuente de alimentación de energía (508) para suministrar corriente al contacto; caracterizado por

al menos una fuente de suministro (504) de solución amortiguadora;

un recipiente de almacenamiento de desecho;

5 un colector (100) de líquido, que incluye al menos un dispensador situado en la estación de acoplamiento (512) y susceptible de hacerse funcionar para la comunicación de líquido con unas lumbreras (30) para líquido de una cajeta (10) que es recibida dentro de la estación de acoplamiento (512), una pluralidad de conductos para transportar líquido desde la fuente de suministro (504) de solución amortiguadora hasta las lumbreras (30) para líquido y para transportar desecho desde las lumbreras (30) para líquido de la estación de acoplamiento (512)
10 hasta el recipiente de desecho, y al menos una válvula para controlar el flujo a través del dispensador; y

un controlador (510) para controlar el funcionamiento de las válvulas.

16.- Un aparato de electroforesis de acuerdo con la reivindicación 15, que comprende adicionalmente un colector (102) de gas que incluye al menos un dispensador en la estación de acoplamiento (512), al menos un conducto para transportar gas entre una fuente de suministro (506) de gas y el dispensador, y al menos una válvula para controlar el flujo a través del dispensador; y la al menos una fuente de suministro (506) de gas.
15

17.- Un aparato de electroforesis de acuerdo con la reivindicación 15 o la reivindicación 16, en el cual existen una pluralidad de contactos eléctricos situados en la estación de acoplamiento (512); en el que la conexión eléctrica consiste en un colector eléctrico (502) que incluye dos terminales eléctricos para conexión a la fuente de alimentación de energía (508), y un conmutador conectado a los terminales y a los contactos eléctricos para conmutar la conexión eléctrica entre los contactos; y en el cual el controlador (510) controla la conmutación del conmutador.
20

18.- Un aparato de electroforesis de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 15 a 17, en el que existen una pluralidad de dispensadores; y en el cual el controlador (502) controla selectivamente la apertura y el cierre de válvulas con el fin de controlar el flujo de líquido desde los diferentes dispensadores.

25 19.- Un aparato de electroforesis de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 15 a 18, que comprende adicionalmente un sistema de identificación situado para leer indicios o indicaciones asociadas con una cajeta (10) o con un sustrato (22), de tal manera que el sistema de identificación está configurado para suministrar señales al controlador (502) basándose en los indicios.

30 20.- Un aparato de electroforesis de acuerdo con la reivindicación 19, en el cual el controlador (502) incluye una pluralidad de procedimientos de proceso de electroforesis almacenados, de tal modo que el controlador (502) selecciona un procedimiento de proceso apropiado basándose en las señales suministradas.

35 21.- Un aparato de electroforesis de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 15 a 20, de tal manera que el aparato incluye múltiples estaciones de acoplamiento (512), estando cada estación de acoplamiento configurada para recibir una cajeta (10), y de modo que el controlador (512) controla la separación electroforética de una muestra dentro de cada cajeta (10).

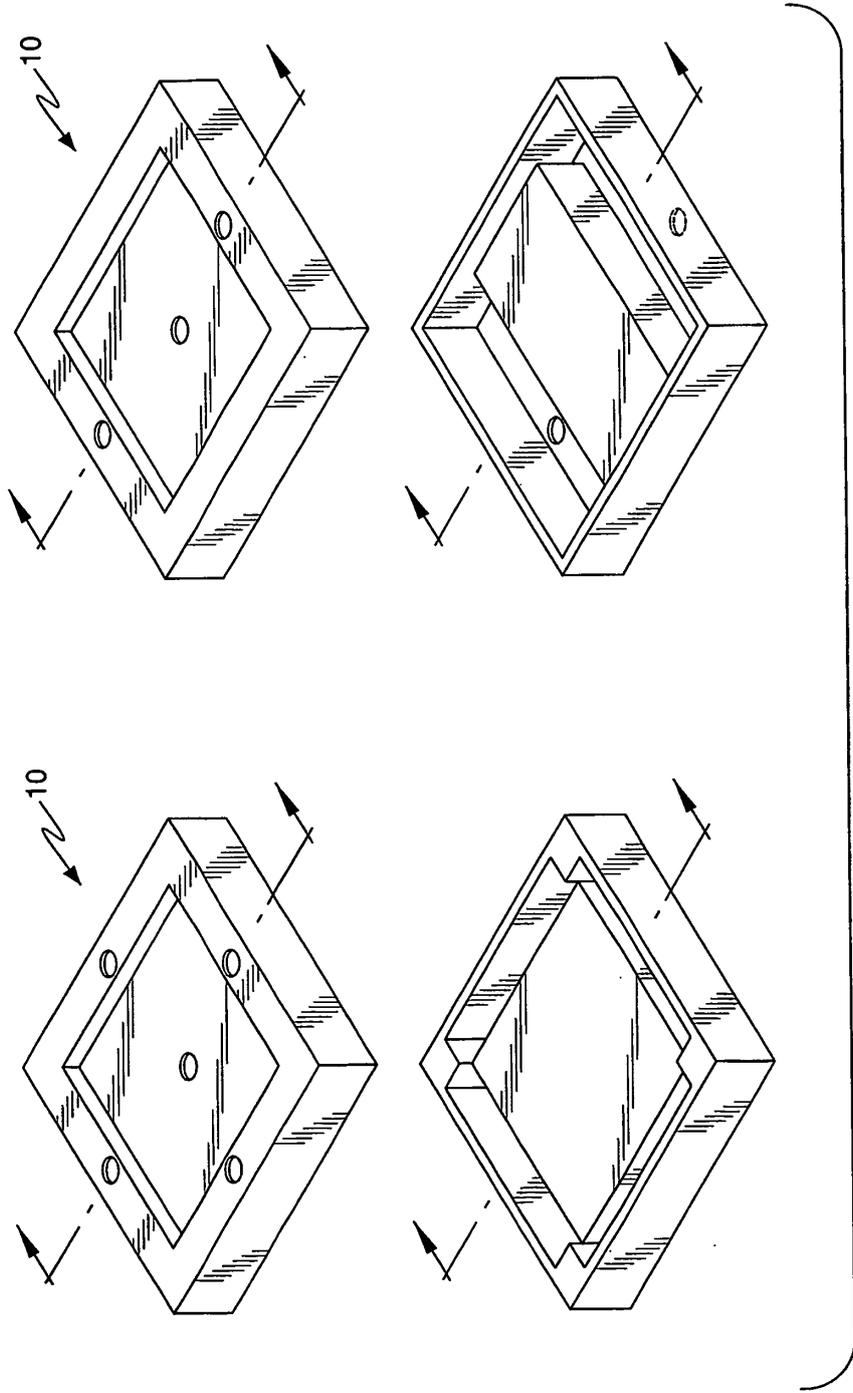


FIG. 1

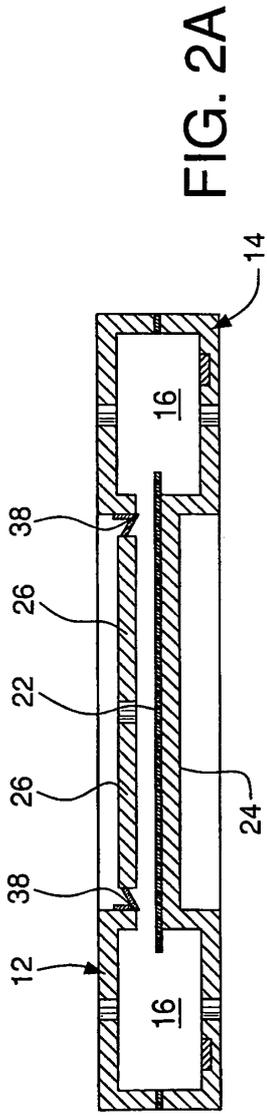


FIG. 2A

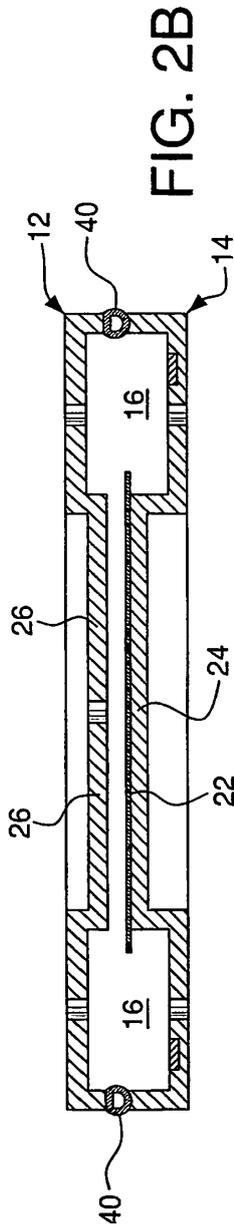


FIG. 2B

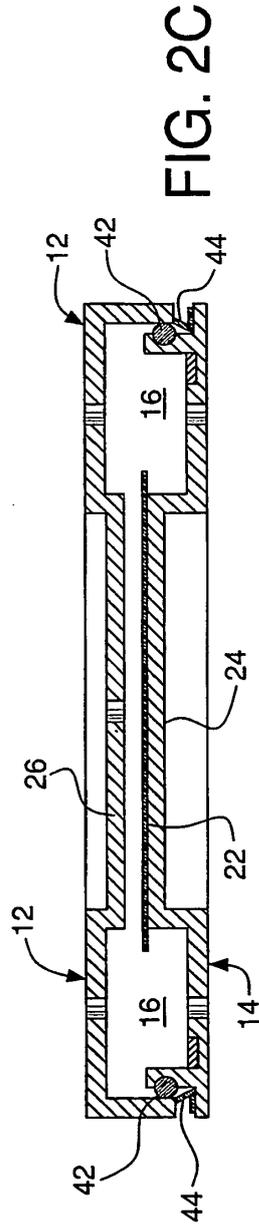


FIG. 2C

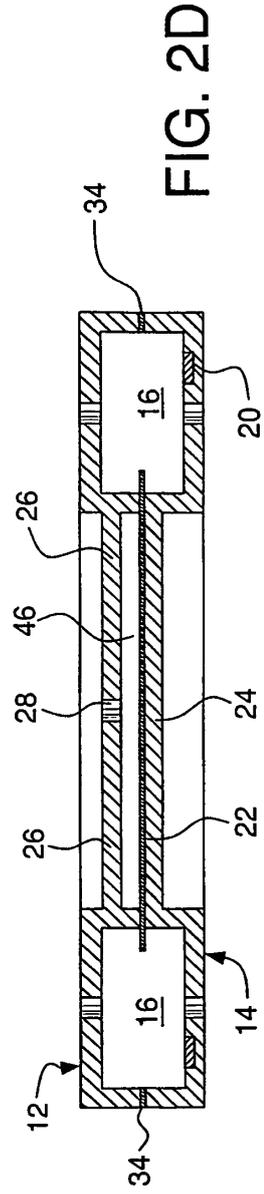


FIG. 2D

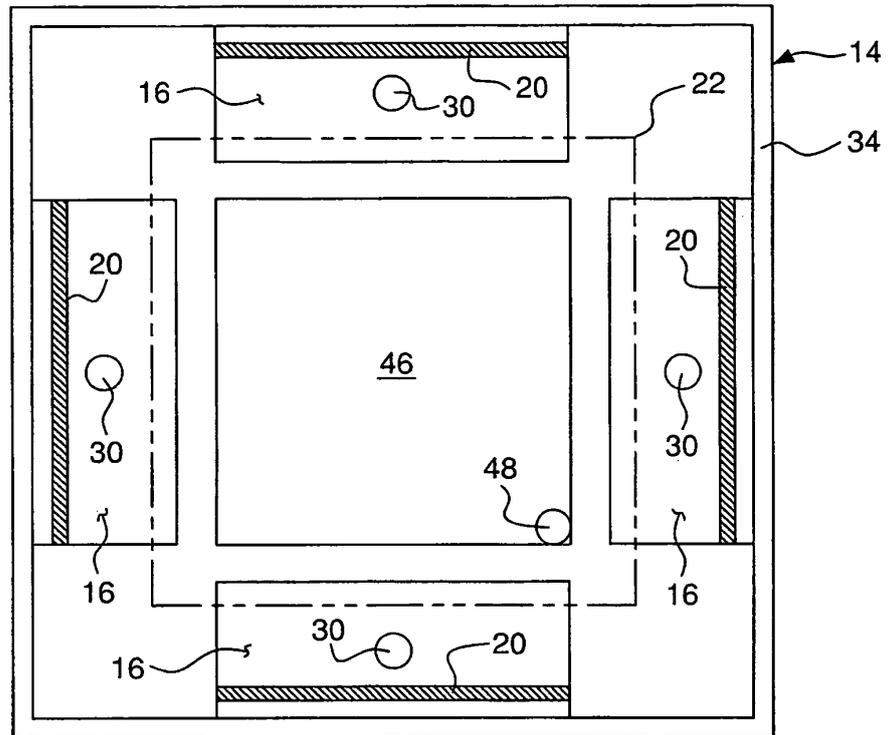
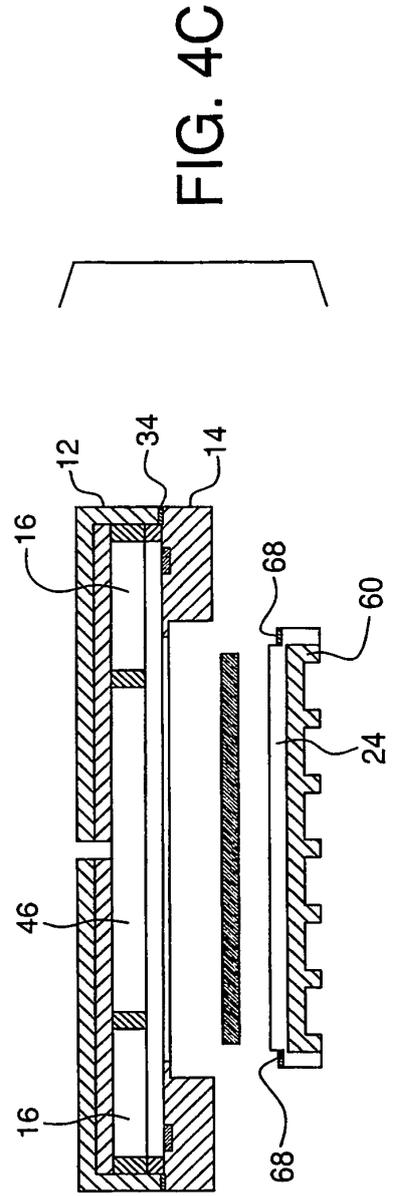
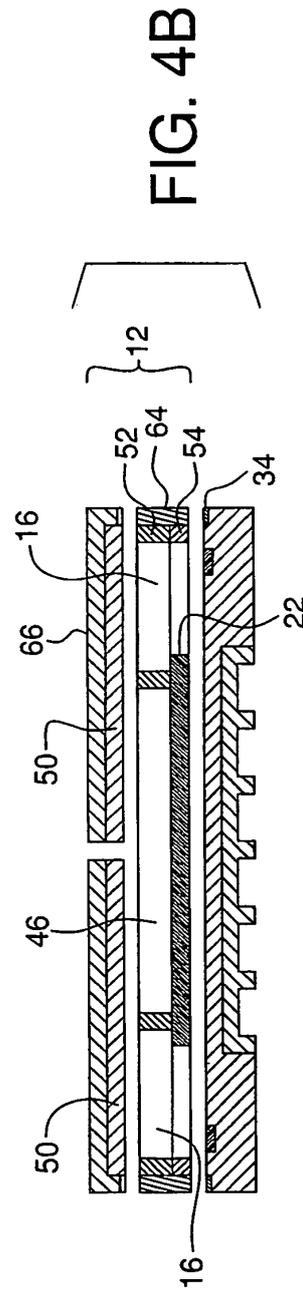
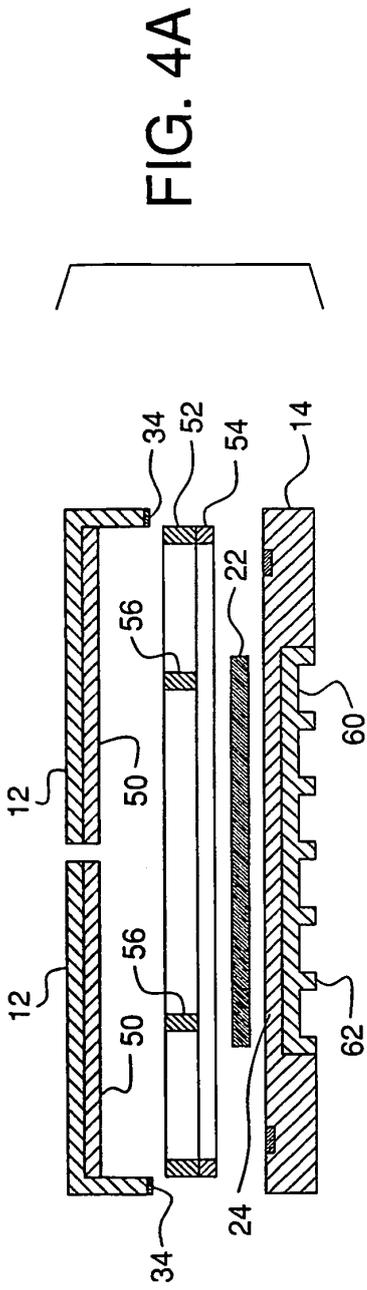


FIG. 3



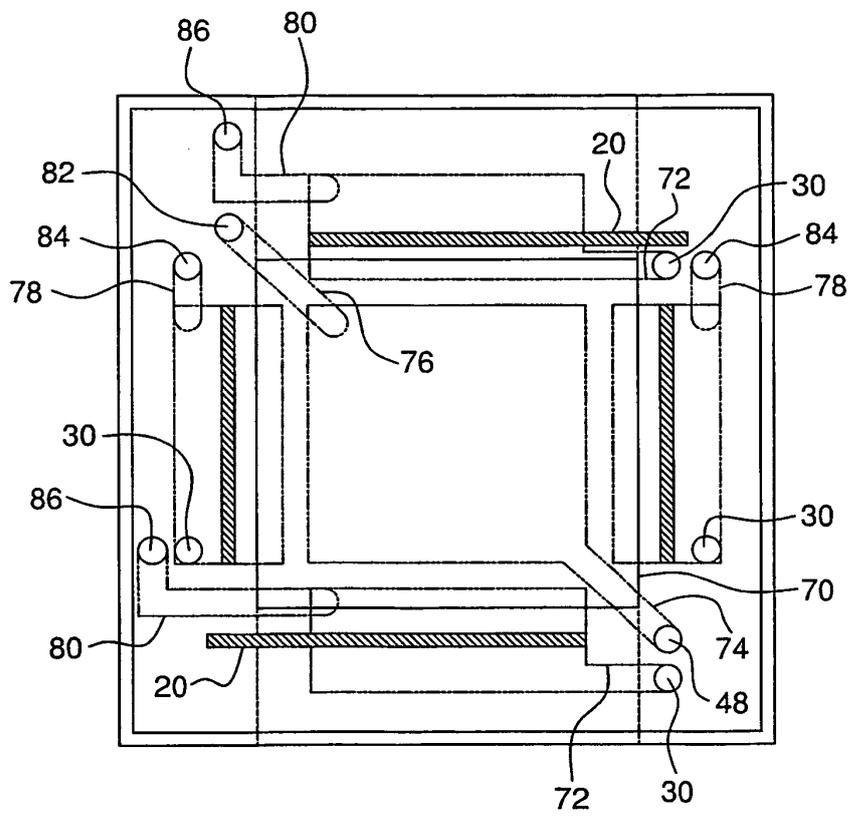


FIG. 5

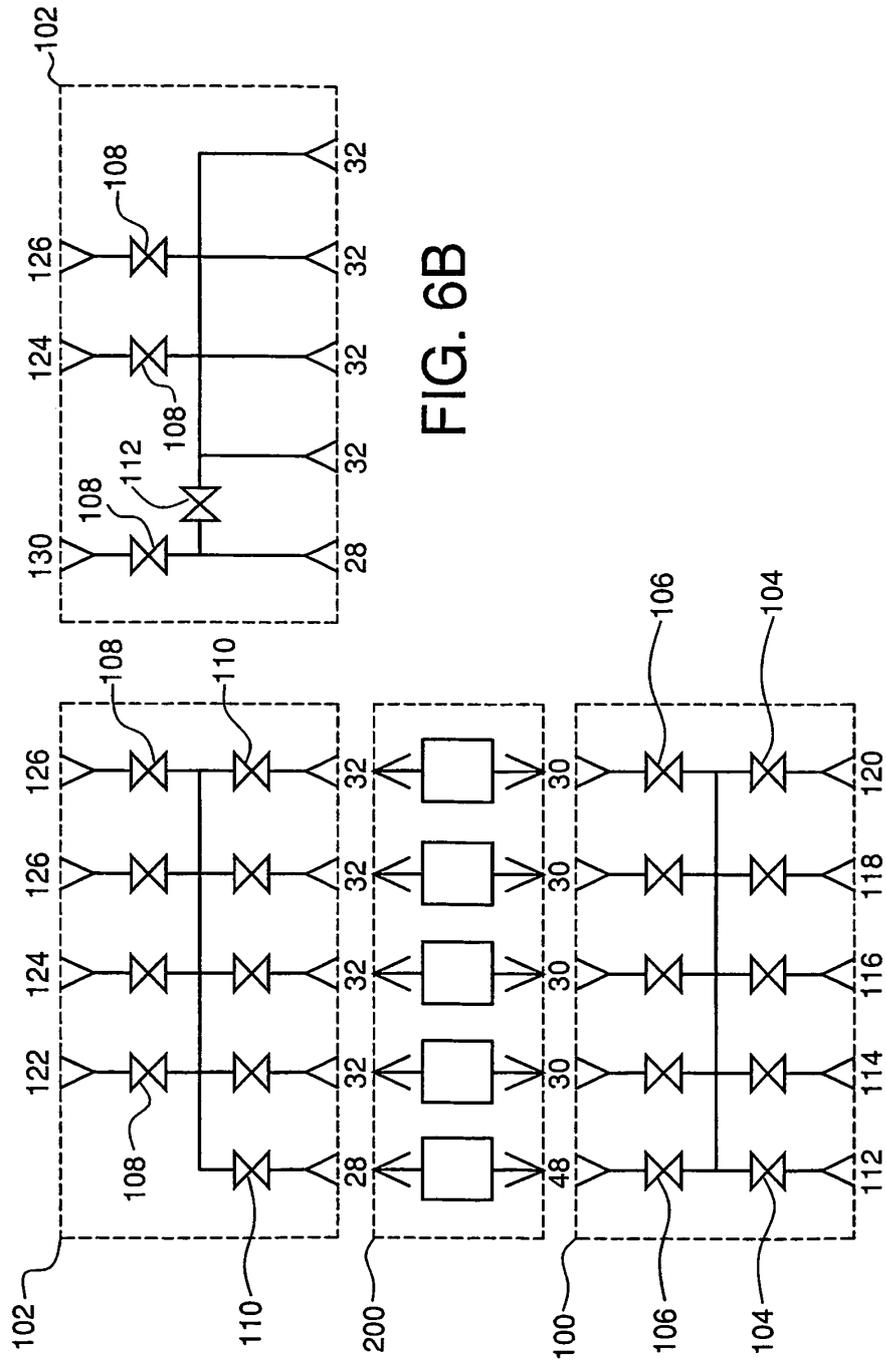


FIG. 6B

FIG. 6A

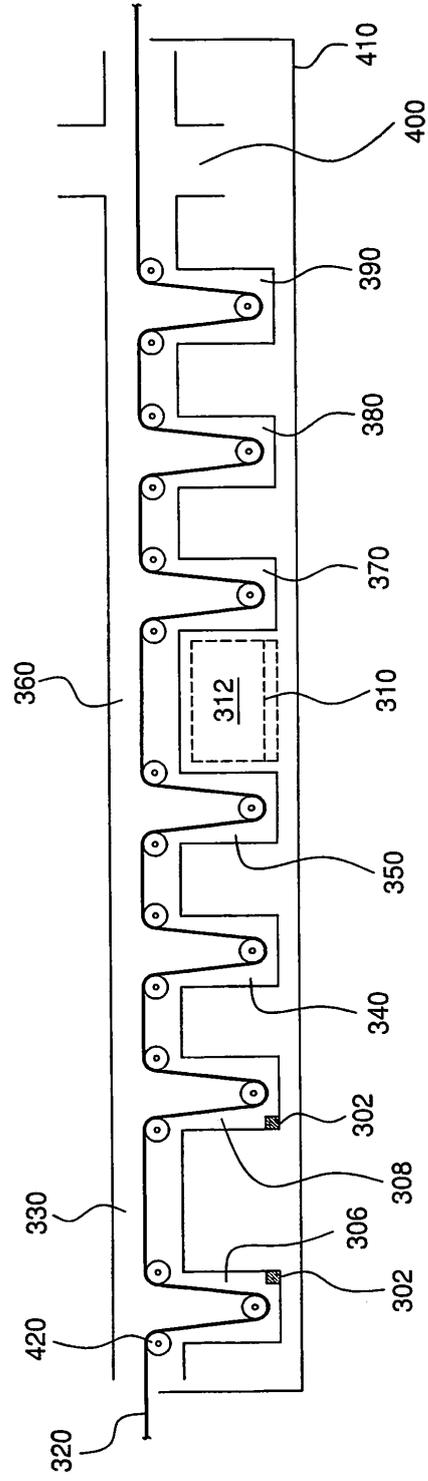


FIG. 7

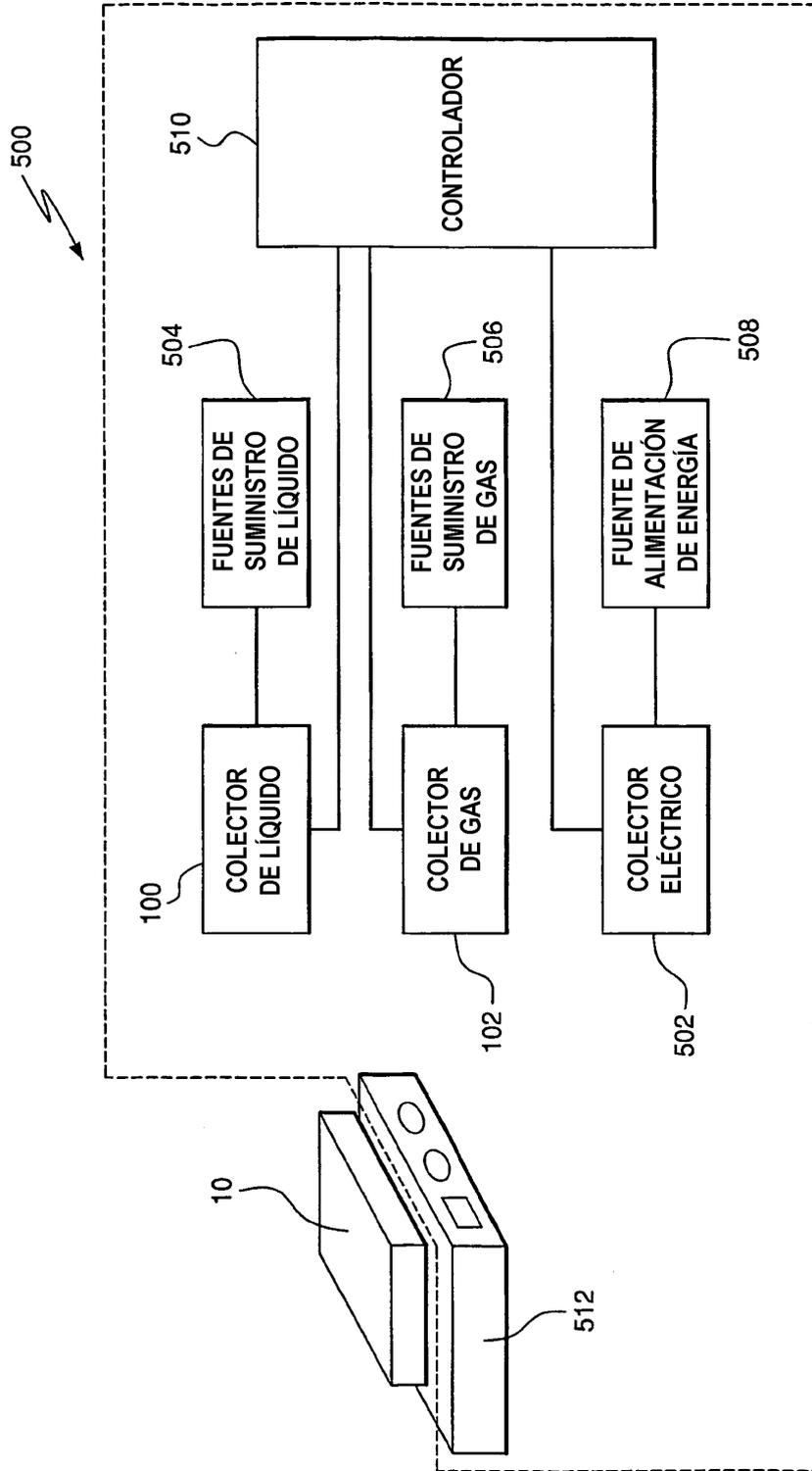


FIG. 8