

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 434 772**

51 Int. Cl.:

G01N 27/447 (2006.01)

B01D 57/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.06.2002 E 02740214 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2013 EP 1406087**

54 Título: **Circuito para la fijación de voltajes en los electrodos de dentro de cámaras CHEF de sistemas de electroforesis en gel de campo pulsado**

30 Prioridad:

08.06.2001 CU 13301

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

17.12.2013

73 Titular/es:

**CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS (CNIC) (100.0%)
AVENIDA 25, NO. 15202, ESQ. A 158
CUBANACAN, PLAYA
CIUDAD DE LA HABANA 12100, CU**

72 Inventor/es:

**HERRERA ISIDRON, JOSÉ ALFREDO;
RIVERON ROJAS, ANA MARÍA;
CANINO RAMOS, CARLOS ALBERTO;
LOPEZ CANOVAS, LLIA y
NOA BLANCO, MARÍA DOLORES**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 434 772 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

Circuito para la fijación de voltajes en los electrodos de dentro de cámaras CHEF de sistemas de electroforesis en gel de campo pulsado

REFERENCIA A LA APLICACIÓN RELACIONADA

La presente invención se refiere a equipos eléctricos usados en electroforesis, específicamente, a la generación de potenciales eléctricos de contornos limitados para generar campos homogéneos que alternan su dirección de aplicación.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La electroforesis

La electroforesis es una técnica que separa las moléculas por su migración diferencial en el interior de un campo eléctrico. Las moléculas pueden ser colocadas en un gel y pasadas por un tamiz cuando se aplica el campo eléctrico que las obliga a migrar. Las moléculas cargadas negativamente migran hacia el ánodo y las cargadas positivamente migran hacia el cátodo. De esta manera, las moléculas son separadas en bandas en el interior del gel, en función de su tamaño. Normalmente, hay dos electrodos paralelos dispuestos para la generación del campo eléctrico; están conectados a las salidas positiva y negativa de una fuente de alimentación.

Las moléculas de ADN se cargan negativamente cuando son disueltas en tampón a pH neutro o alcalino. Cuando se aplica el campo eléctrico, las moléculas de ADN se alargan y su relación carga-masa se hace independiente de su tamaño molecular. Las razones indicadas anteriormente, junto con el hecho de que las moléculas de ADN migran a través de los poros del gel de una manera similar al movimiento de una serpiente, es decir, por medio de un mecanismo de reptación, se determina que las moléculas que tienen más de 20.000 pares de bases no pueden ser separadas en la electroforesis en campo eléctrico constante, incluso cuando son sometidas a tamizado molecular.

Electroforesis en gel de campo pulsado

La electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) fue creada por Schwartz y Cantor en 1984 (Cell, 37, pp 67-75, 1984, patente US 4.473.452, 25 de septiembre, 1984) y aumentó la gama de moléculas de ADN que podrían ser separadas en la electroforesis. Los autores encontraron que las grandes moléculas de ADN intactas, de más de 20.000 pares de bases, se separaban en patrones de bandas en el interior de geles de agarosa por medio de la aplicación de pulsos eléctricos de duración seleccionada que alternaban periódicamente su dirección de aplicación con relación al gel de separación. Los cambios en la dirección de la aplicación del campo eléctrico causan la reorientación de la migración de las moléculas de ADN, mientras que la duración de esta reorientación depende del tamaño molecular. Los patrones de bandas resultantes han sido denominados "patrones electroforéticos", "cariotipos moleculares", "cariotipos electroforéticos", etc.

De esta manera, cualquier sistema de electroforesis en gel de campo pulsado consiste en:

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

Los campos eléctricos que se generaban en los equipos de PFGE iniciales, tales como los descritos por Schwartz y Cantor (Cell, 37, pp 67-75, 1984; patente US N° 4.473.452, 25 de septiembre, 1984) y otros, tales como los descritos por Carle y Olson (Carle G. F., Olson M. V. Nucleic. Acid Res., 12, pp 5647-5664, 1984)) no ofrecían valores homogéneos de intensidad del campo eléctrico a lo largo del gel, de manera que la trayectoria y la velocidad de migración de las moléculas de ADN en estos geles dependían de la posición que ocupaban en el interior del gel.

Generación de campos eléctricos homogéneos en PFGE

En teoría, dos electrodos infinitos colocados en paralelo y separados cierta distancia generan un campo eléctrico homogéneo. Pero el diseño de dicha cámara de electroforesis es impracticable. Para acercarse a la obtención de un campo eléctrico de intensidad homogénea a lo largo del gel de separación usando electrodos finitos, Chu (Chu G., D. Vollrath, Davis RW Science, 234, pp 1582-1985, 1986) propuso lo siguiente:

1. Se selecciona un polígono regular (cuadrado, rectángulo o hexágono) como un contorno cerrado en cuyos lados se colocarán un conjunto de electrodos para generar en el interior del polígono un campo

eléctrico de valores de intensidad homogénea.

2. El eje "X" ($y = 0$) de un plano cartesiano imaginario se hace coincidir con uno de los lados del polígono regular.

3. Se aplica un potencial de 0 voltios a los electrodos colocados en $y = 0$

4. Se aplica un potencial de " V_0 " voltios a los electrodos colocados en el lado opuesto del polígono regular que están a una distancia $y = A$ desde el eje "X".

5. En los electrodos restantes, situados en los otros lados del polígono regular y a una distancia " y_i " desde el eje "X", se aplica un potencial de " $V(y_i)$ ", donde $V(y_i) = V_0 \cdot y_i / A$.

6. De esta manera, el potencial generado en el interior del polígono regular es similar al que sería generado por dos electrodos infinitos y paralelos separados una distancia "A" uno del otro.

7. Si la polaridad de los electrodos colocados en dos pares de lados opuestos es intercambiada electrónicamente se formará un ángulo entre las líneas de fuerza de los campos eléctricos resultantes. Este ángulo se denomina en PFGE "ángulo de reorientación".

8. El ángulo de reorientación, obtenido cuando la polaridad entre los electrodos de dos pares de lados diferentes es intercambiada electrónicamente, será de 90° en el cuadrado y de 60° o de 120° en el hexágono.

La configuración de electrodos en un conjunto hexagonal ha sido la usada en los sistemas actuales de PFGE. Ese sistema se denominó campo eléctrico homogéneo de contornos limitados o CHEF (Contour Clamped Homogeneous Electric Field) y fue introducido por Chu en 1986 (Chu G. Science 234, pp 1582-1585, 16 de diciembre, 1986).

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

Procedimientos para fijar los voltajes en los electrodos en el interior de una cámara CHEF y para obtener campos eléctricos de intensidad homogénea en el interior del gel

Principalmente, se han propuesto tres procedimientos, los cuales fueron ganando en complejidad y componentes electrónicos:

1. Un divisor de voltaje sencillo (Chu G., Vollrath D., Davis R. W. Science, 234, pp 1582-1585, 1986).

2. El divisor de voltaje asociado a unos pares de transistores en configuración push-pull (Maule J., Green D. K. Anal. Biochem. 191, pp 390-395, 1990).

3. El uso de amplificadores operacionales para controlar mejor los voltajes impuestos en cada electrodo del sistema CHEF (Clark S.M., Lai E., Birren B.W., Hood L. Science 241, pp 1203-1205, 1988).

Divisor de voltaje simple en los sistemas de PFGE.

Uno de los procedimientos para fijar los valores de potencial en los electrodos CHEF es mediante el uso de una red de resistencias que están conectadas en serie. Esta red forma un divisor de voltaje entre los valores de cero y " V_0 ". Se denominarán nodos a los lugares de unión entre dos resistencias en serie del divisor de voltaje y en cada nodo hay conectado un electrodo del hexágono.

Los electrodos colocados en $y = 0$ e $y = A$, es decir, en dos lados opuestos del hexágono, están conectados a los potenciales "0" y " V_0 ", respectivamente. Hay otros dos grupos de electrodos, los electrodos de dos lados consecutivos del hexágono forman cada grupo. Cada uno de estos electrodos está conectado a un nodo del divisor de voltaje que define el potencial que debería aplicarse en este electrodo. El valor potencial que se impone es calculado tal como se ha indicado en el párrafo anterior. Por esa razón, los dos electrodos que están en dos lados diferentes del hexágono, pero están a la misma distancia " y_i " desde los electrodos más electronegativos ($y = 0$), deberían estar al mismo valor de voltaje determinado por $V(y_i) = V_0 \cdot y_i / A$.

Para conseguir el cambio en la dirección de aplicación del campo eléctrico, lo cual es indispensable en PFGE, la diferencia de potencial es aplicada a otros dos grupos diferentes de electrodos. Esto se lleva a cabo con relés y diodos que conectan los electrodos que deberían estar polarizados con cero voltios y " V_0 " a las salidas de la fuente de alimentación a través del sistema para la conmutación de los campos eléctricos.

Sin embargo, el uso de la serie de resistencias para fijar los voltajes tiene un inconveniente. Cuando la red de resistencias y la solución tampón hacen contacto, esta última se comporta como una nueva resistencia conectada en paralelo con las resistencias de la red. Las corrientes que se inyectan desde las resistencias hacia los electrodos y viceversa cambian el valor del potencial en cada electrodo y afectan a la homogeneidad del campo eléctrico. El cambio de voltaje depende de la cantidad de corriente que es inyectada o es extraída desde la solución

tampón lo que, a su vez, depende de los cambios en la concentración, la temperatura, el volumen y el pH de la solución tampón, entre otros. Estos cambios afectan aleatoriamente a la conductividad del tampón y, por lo tanto, a la magnitud de la corriente eléctrica que es intercambiada con el circuito resistivo puro (Maule J., Green D. K. Anal. Biochem. 191, pp 390-395, 1990). Estos cambios aleatorios en el voltaje aplicado a los electrodos son incontrolables y, por lo tanto, afectan de manera diferente a los resultados y a la reproducibilidad de los patrones electroforéticos que se obtienen en cada experimento.

Esos cambios pueden ser reducidos si la corriente que pasa a través de la serie de resistencias es mucho más grande que la que circula por el tampón (Maule, J. and Green, D. K. Anal. Biochem. 191, pp 390-395, 1990). Sin embargo, esa solución tiene la desventaja de que causa una pérdida innecesaria de energía eléctrica y obliga a usar componentes (especialmente, resistencias) de mayor potencia, que son más caras.

Divisor de voltaje asociado a pares de transistores en configuración push-pull.

Para resolver los problemas expuestos para el divisor de voltaje resistivo, se propuso el uso de fuentes de corriente realizadas con elementos semiconductores (Maule J., Green D. K. Anal. Biochem. 191, pp 390-395, 1990). Esas fuentes de corriente separan cada electrodo de su nodo correspondiente en la serie de resistencias del divisor. Entre cada nodo y su electrodo correspondiente, se coloca un par de transistores en la configuración denominada "push-pull". Estos inyectan y extraen corriente eléctrica de cada electrodo, a continuación, repitiendo en los electrodos el voltaje del nodo del divisor sin que no se vea afectado por los cambios de la conductividad de la solución tampón. El sistema indicado es capaz de polarizar apropiadamente los electrodos en las dos direcciones de aplicación del campo eléctrico en PFGE. Sin embargo, tiene algunas limitaciones:

1. Los pares de electrodos que deberían ser polarizados con el mismo valor de voltaje, $V(y_i) = V_0 \cdot y_i / A$, obtiene su potencial desde diferentes nodos, por lo tanto, no siempre se consigue la igualdad de los voltajes en todos los pares de electrodos requeridos.

2. Los electrodos más cercanos a los electrodos más electropositivos reciben la corriente eléctrica desde el transistor de tipo NPN de la configuración push-pull al que están conectados. Mientras que los electrodos más cercanos a los electrodos más electronegativos actúan como sumideros de corriente eléctrica hacia el transistor de tipo PNP de la configuración push-pull al que están conectados. El hecho de que los transistores de diferentes polaridades estén activos al mismo tiempo introduce errores en los voltajes aplicados a los electrodos.

3. Las resistencias que establecen el potencial aplicado a los electrodos en una o en ambas direcciones de aplicación del campo son las mismas que lo hacen en la otra dirección. Por esa razón, no es posible realizar un ajuste independiente de los potenciales aplicados a los electrodos en cada campo. Cualquier variación que se desee introducir en una de las dos direcciones afecta necesariamente a la otra dirección.

4. El circuito tiene tantos pares de transistores en la configuración push-pull como electrodos tiene la cámara CHEF. Los pares de transistores en la configuración push-pull están conectados en paralelo. Cuando algunos de los transistores se estropean, es difícil determinar el par dañado.

5. En los pares de transistores configurados en push-pull, uno de los transistores está siempre activo, mientras que el otro está inactivo. Esto significa que, en todo momento, la mitad de los transistores están inactivos. Sin embargo, esos transistores no pueden ser eliminados del circuito, ya que cuando el campo eléctrico se aplica en la otra dirección, algunos pares cambian el transistor activo. Por lo tanto, la red de divisor de voltaje conectada a pares de transistores en la configuración push-pull es ineficiente, ya que el número total de transistores inactivos en cada campo es excesivo, al igual que la cantidad total de transistores.

6. Todos los pares de transistores están conectados a la fuente de alimentación sin ningún elemento que limite la corriente. El fallo de un solo transistor causa un cortocircuito entre las salidas positiva y negativa de la fuente de alimentación. Por lo tanto, puede concluirse que el circuito no es seguro.

Uso de amplificadores operacionales para controlar mejor los voltajes impuestos en cada electrodo del sistema CHEF.

Otros sistemas más complejos usan amplificadores operacionales para realizar un control individual del potencial impuesto en cada electrodo del conjunto hexagonal de la cámara (patente US 5.084.157). Esos sistemas son capaces de variar el ángulo entre las dos direcciones de aplicación del campo eléctrico, pero mediante un aumento de la complejidad electrónica de los sistemas, así como de su construcción y su funcionamiento. Además, los elementos que realizan el control de los potenciales no pueden ser aislados, de manera apropiada, de los elementos de potencia. Es necesaria la conversión digital, lo que implica nuevas complejidades y el costo del equipo aumenta.

Por otro lado, Riverón y cols. (solicitud de patente cubana N°: 2000-306, publicada como CU22849) demostraron que para la obtención de patrones de bandas rectos y reproducibles en PFGE es necesario garantizar campos

eléctricos de intensidad homogénea en el interior de la cámara de electroforesis. Determinaron que la homogeneidad del campo eléctrico aplicado puede obtenerse sólo si, además de tener un sistema para una polarización apropiada de los electrodos en el contorno cerrado, se garantiza la homogeneidad de la resistencia eléctrica del tampón y el gel. Si la resistencia eléctrica se describe como

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

en la que: (σ) es la conductividad del electrolito, (d) es la separación entre los electrodos de polaridades opuestas y (A) es el área de sección transversal al flujo de la corriente eléctrica.

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

Por lo tanto, si los sistemas de PFGE, incluso aquellos que tienen circuitos electrónicos muy complejos para polarizar los electrodos, no aseguran la homogeneidad de la resistencia eléctrica del tampón, no pueden garantizar patrones de bandas rectos y experimentos reproducibles. Esta situación se hace más crítica con cámaras pequeñas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Para explicar apropiadamente el circuito propuesto en la presente invención, es necesario definir un sistema de referencia.

Sistema de referencia

Se considerará un contorno cerrado de electrodos (de las cámaras PFGE del sistema CHEF) en el que hay colocados varios electrodos en los lados "m" de un polígono regular, donde "m" es par. En este sistema de referencia (Figura 1) el lado L_1 se define arbitrariamente y se coloca en el eje "X" de un plano cartesiano. El lado opuesto (denominado $L_{(m/2)+1}$) se encuentra a una distancia "A" desde el eje "X". De esta manera, los lados restantes del polígono regular están distribuidos simétricamente a ambos lados de los lados L_1 y $L_{(m/2)+1}$. Los lados del polígono regular que están a la izquierda de los lados L_1 y $L_{(m/2)+1}$ se denominarán como lados "C" y los que están a la derecha de denominarán lados "D".

En cada lado hay colocados "k" electrodos, donde "k" es un número natural entre 1 y 10. Habrá "k" electrodos colocados en el lado L_1 que está en el eje "X" con ordenada $y_0 = 0$. También habrá "k" electrodos situados en el lado $L_{(m/2)+1}$ a una distancia "A" desde el eje de la "X" con ordenada $y_{n+1} = A$.

Todos los electrodos situados en los lados "C" y "D" se denominarán $E_{1C}, E_{2C}, \dots, E_{nC}$ y $E_{1D}, E_{2D}, \dots, E_{nD}$, donde "n" es igual a $k \cdot (m-2)/2$. La denominación de los electrodos se realiza en el siguiente orden para los lados "C" y "D", empezando por el lado L_1 hasta llegar al lado $L_{(m/2)+1}$. Electrodos, $E_{1C}, E_{2C}, \dots, E_{nC}$, y electrodos $E_{1D}, E_{2D}, \dots, E_{nD}$. Los dos electrodos E_{iC} y E_{iD} están colocados a la misma distancia y_i del eje "X", donde "i" es un número natural entre 1 y "n". Cada uno de ($[E_{1C}-E_{1D}], [E_{2C}-E_{2D}], \dots, [E_{nC}-E_{nD}]$) se denominará par P_i de electrodos.

Circuito de la presente invención para conseguir campos eléctricos homogéneos en el interior de un contorno cerrado de electrodos

El circuito para fijar los voltajes en los electrodos de las cámaras de PFGE de un sistema de campo eléctrico homogéneo de contornos limitados según la invención se explica en las reivindicaciones adjuntas.

Una realización de un dispositivo para electroforesis en gel usando un campo eléctrico de contornos limitados es conocida a partir del documento EP 0 356 187. En el dispositivo conocido, hay provista una red cerrada de resistencias en la que se emplea un circuito tampón transistorizado para cada electrodo.

Una realización de un generador de campo eléctrico homogéneo de contornos limitados es conocida a partir del documento EP 0 342 249. En el generador conocido, hay provisto un circuito con amplificadores operacionales y MOSFETs.

Para explicar el circuito, en primer lugar, se hará referencia a cómo conseguir un campo homogéneo usando el sistema de referencia descrito anteriormente. Se supone que los electrodos se energizan durante la electroforesis con una diferencia de voltaje determinada entre 0 y " V_0 " voltios, que se obtienen respectivamente desde las salidas negativa y positiva de una fuente de alimentación, tal como se indica a continuación:

1. Se aplican "0" (cero) voltios a los "k" electrodos situados en el lado L_1 .
2. Se aplican " V_0 " voltios a los "k" electrodos situados en el lado $L_{(m/2)+1}$ opuesto.

Sin embargo, cuando se aplica una diferencia de potencial entre los electrodos situados en los lados L_1 y $L_{(m/2)+1}$, se establece un campo eléctrico en el interior de la cámara PFGE cuya intensidad no es homogénea en todas las regiones de la cámara. Esto significa que en los pares P_i de electrodos aparece un voltaje no proporcional a la distancia y_i . Por lo tanto, en los electrodos restantes deberían imponerse valores de voltaje que homogenicen el campo eléctrico en el interior de toda la cámara de electroforesis. Entonces, a los pares P_i de electrodos se aplica una tensión $V_i = V_0 \cdot y_i / A$.

De esta manera, los electrodos del contorno cerrado se polarizan para generar un campo eléctrico homogéneo en una dirección de aplicación determinada. Puede aplicarse un razonamiento similar para conseguir un campo eléctrico homogéneo de la misma magnitud, pero cuyas líneas de fuerza tienen otra dirección. Sólo es necesario definir otro lado del polígono regular como L_1 .

En la presente invención, se propone que ambos campos eléctricos del PFGE puedan ser energizados con dos circuitos de fijación idénticos. Los circuitos de fijación están conectados entre las salidas positiva y negativa de la fuente de alimentación por medio de otro circuito o alternador que alterna los campos eléctricos de manera que sólo uno de los circuitos de fijación reciba energía eléctrica en cada momento.

Cada circuito de fijación impone en los electrodos los voltajes que generan un campo eléctrico de intensidad homogénea en una dirección de aplicación en el interior de la cámara CHEF. Para aplicar el campo eléctrico en una dirección, el circuito correspondiente es conectado tal como se indica a continuación:

I. La salida negativa de la fuente de alimentación es conectada a través de diodos a los "k" electrodos del lado L_1 (lado situado en el eje "X"). La salida positiva de la fuente de alimentación es conectada a través de diodos a los "k" electrodos situados en el lado $L_{(m/2)+1}$, es decir, a los electrodos situados en el lado situado a la distancia "A" desde el eje "X".

II. La conexión a través de diodos entre la salida negativa de la fuente de alimentación y los "k" electrodos del lado L_1 se realiza de la manera siguiente:

- a) cada electrodo del lado L_1 del polígono regular es conectado al ánodo de un diodo,
- b) los cátodos de esos diodos, una para cada electrodo, son conectados todos entre sí y al ánodo de un segundo diodo,
- c) el cátodo de ese segundo diodo es conectado a la salida negativa de la fuente de alimentación.

III. La conexión a través de los diodos entre la salida positiva de la fuente de alimentación y los "k" electrodos del lado $L_{(m/2)+1}$ se realiza de la manera siguiente:

- a) cada electrodo del lado $L_{(m/2)+1}$ del polígono regular es conectado al cátodo de un diodo,
- b) los ánodos de esos diodos, uno para cada electrodo, son conectados todos entre sí y al cátodo de un segundo diodo,
- c) el ánodo de ese segundo diodo es conectado a la salida positiva de la fuente de alimentación.

IV. Hasta diez diodos y "n+1" resistencias R_i son conectados en serie para formar un divisor de voltaje que genera las diferencias de voltaje. Los extremos de dicho divisor de voltaje son conectados también a las salidas negativa y positiva de la fuente de alimentación. De esta manera, el voltaje total ($V_0 - 0$) es dividido en valores proporcionales a la distancia " y_i " que separa cada par P_i de electrodos ($E_{iC} - E_{iD}$) desde el eje "X".

V. Cada nodo N_i formado entre las resistencias R_i y R_{i+1} del divisor de voltaje es conectado a la entrada de un repetidor de voltaje. La salida de cada repetidor de voltaje es conectada a uno de los pares P_i de electrodos. Los repetidores de voltaje tienen dos funciones, una es repetir en su salida (los pares P_i de electrodos) el voltaje en su entrada que viene desde el nodo N_i . La otra función es mantener este voltaje constante independientemente de los cambios de conductividad del tampón durante la PFGE.

Los repetidores de voltaje son de dos tipos:

1. Cuando el repetidor de voltaje está conectado entre un nodo N_i del divisor y un par P_i de electrodos, donde "i" es un número natural entre " $[(n/2)+1]$ " y "n", este repetidor de voltaje está formado por los siguientes elementos de circuito:

un único transistor de tipo NPN cuya base está conectada al nodo N_i del divisor de voltaje, su colector a la salida positiva de la fuente de alimentación y su emisor a un par de diodos formado por dos diodos cuyos

ánodos están conectados al emisor de dicho único transistor y cuyos cátodos están conectados a los electrodos del par P_i de electrodos indicado anteriormente.

5 2. Cuando el repetidor de voltaje está conectado entre un nodo N_i del divisor y un par P_i de electrodos, donde "i" es un número natural entre 1 y " $n/2$ ", este repetidor de voltaje está formado por los siguientes elementos del circuito:

10 un único transistor de tipo PNP, cuya base está conectada al nodo N_i del divisor de voltaje, su colector a la salida negativa de la fuente de alimentación y su emisor a los dos diodos cuyos cátodos están conectados al emisor de dicho único transistor y cuyos ánodos están conectados a los electrodos del par P_i de electrodos indicado anteriormente.

El valor de cada resistencia R_i se elige para garantizar que el voltaje en cada par P_i de electrodos sea proporcional a la distancia que los separa de los electrodos situados en el lado L_1 del polígono regular.

15 El otro circuito es idéntico a éste, pero está conectado a los electrodos E_i de una manera diferente. Según el ángulo deseado entre las líneas de fuerza de los campos eléctricos que van a ser generados, otro lado del polígono es redefinido como lado L_1 y el sistema de referencia se hace girar el ángulo necesario para que el nuevo lado L_1 esté situado en el eje "X". Los lados "C" y "D", los electrodos E_i y los pares P_i de electrodos se redefinen empezando desde el lado L_1 .

20 A partir del razonamiento anterior, se deduce que los pares P_i de electrodos de cada circuito son diferentes. Es por ello que se requieren diodos y que no pueden conectarse directamente a los emisores de los transistores de los repetidores de voltaje. Los diodos permiten la unión de los dos electrodos de los pares de electrodos garantizando que tengan el mismo potencial cuando ese repetidor de voltaje está activo, ya que el campo se aplica en esa dirección. Cuando el campo eléctrico está establecido en la otra dirección, los diodos que unen el par P_i de electrodos antiguo permanecen conectados en serie, pero con polaridades opuestas. De esta manera, se garantiza que las ramas del circuito entre los pares de electrodos antiguos que unen a electrodos a diferente potencial en este momento, tengan al menos un diodo polarizado inversamente. Tienen una resistencia eléctrica muy alta y los electrodos de esa rama se aíslan eléctricamente.

30 La influencia de los cambios de conductividad del tampón sobre el potencial de cada nodo N_i del divisor es reducida haciendo que el electrodo actúe como una fuente o un sumidero de corriente hasta que su voltaje se iguale al voltaje de su nodo. Los transistores en la configuración "seguidor de emisor" se usan como fuentes de corriente. Los pares de electrodos situados más cerca de la salida negativa deberían extraer siempre corriente desde el tampón ya que sus potenciales tienden a ser más altos que el potencial en su nodo de referencia correspondiente. Por esta razón, se usan unos transistores de tipo PNP que actúa como sumidero de esta corriente hacia la salida negativa de la fuente de alimentación. Los pares de electrodos situados más cerca de la salida positiva deberían actuar siempre como fuentes de corriente hacia el tampón ya que su potencial tiende a ser menor que el potencial de su nodo correspondiente. Para ello, se usa un transistor de tipo NPN, que recibe corriente desde la salida positiva. De esta manera, el potencial de los nodos de referencia no se ve afectado considerablemente.

40 Durante la electroforesis, se producen variaciones de temperatura, concentración, pH, altura, etc., del tampón. Estas perturbaciones tienden a modificar el voltaje aplicado a los electrodos. La corriente necesaria para contrarrestar estos efectos es gestionada también por los transistores.

50 Cada potencial de par de electrodos se asemeja a su potencial de referencia pero difiere en un cierto valor. La diferencia es causada por caídas del voltaje entre la base y el emisor del transistor y del diodo asociadas a los pares de electrodos. Esta caída de voltaje es característica de las uniones PN de los elementos semiconductores de silicio y es aproximadamente similar a 0,7 voltios.

55 El cambio en la polaridad de los transistores y los diodos que se producen en el centro del divisor introduce un error en el voltaje aplicado a los electrodos. Este error puede ser compensado insertando diodos en serie con la resistencia central del divisor de voltaje. De esta manera, el potencial de los nodos de referencia se modifica en la misma magnitud pero en sentido contrario al efecto de las caídas de voltaje en los transistores y los diodos de cada par.

60 Finalmente, es necesario insertar un diodo en serie con los diodos que polarizan los electrodos situados en los lados L_1 y $L_{(m/2)+1}$ y están conectados a las salidas positiva y negativa de la fuente de alimentación, en cada orientación de campo eléctrico. Esto es necesario para homogeneizar el número de caídas de voltaje (causadas por uniones PN directamente polarizadas) en la trayectoria entre las salidas de la fuente de alimentación y cada

uno de los electrodos. Estas trayectorias tienen dos uniones PN para los electrodos situados en los lados "C" y "D".

Por lo tanto, el circuito propuesto en la presente invención consiste en dos partes idénticas que están conectadas a la fuente de alimentación a través de otro circuito electrónico apropiado para alternar los campos eléctricos con la intensidad y la duración de pulso deseadas.

EJEMPLOS

Los ejemplos siguientes son ilustrativos del circuito que se describe, pero no limitan, de ninguna manera, el alcance de la presente patente.

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

Conjunto de electrodos.

En la Figura 2, se muestra un grupo de electrodos 101 a 118 colocados en un hexágono regular con tres electrodos por cada lado. En una de las direcciones de la aplicación del campo eléctrico (denominada A), los electrodos 101, 102 y 103 (denominados grupo A+) están polarizados con el potencial máximo, cercano al potencial de la salida positiva de la fuente de alimentación. Los electrodos 110, 111 y 112 (denominados grupo A-) están polarizados con el potencial mínimo, cercano a 0 voltios. El resto de los electrodos están organizados en pares (Tabla I). Cada electrodo del mismo par será polarizado con el mismo voltaje, uno proporcional a la distancia desde cada par a los electrodos del grupo A-.

En la otra dirección de la aplicación del campo eléctrico (denominada B), los electrodos 113, 114 y 115 (denominados grupo B+) están polarizados con el potencial máximo, cercano al potencial de la salida positiva de la fuente de alimentación. Los electrodos 104, 105 y 106 (denominados grupo B-) están polarizados con el potencial mínimo, cercano a 0 voltios. El resto de los electrodos están organizados en pares (Tabla I). Cada electrodo del mismo par será polarizado con el mismo voltaje, uno proporcional a la distancia desde cada par a los electrodos del grupo B-.

En este conjunto particular de electrodos, la distancia "dist" entre dos electrodos consecutivos es la misma. Sin embargo, la distancia entre el par de electrodos 118-104 y los electrodos del grupo A+ es la mitad que la distancia "dist", es decir, "dist/2". Lo mismo ocurre con los pares 113-109, 116-112 y 103-107 con relación a los electrodos de los grupos A-, B + y B-, respectivamente.

Tabla I

Pares de electrodos y tipo de transistor del repetidor de voltaje al que están conectados				
Dirección "A"		Dirección "B"		Tipo de transistor
118	104	116	112	NPN
117	105	117	111	
116	106	118	110	
115	107	101	109	PNP
114	108	102	108	
113	109	103	107	

Las líneas muestran el número de los electrodos que deberían ser polarizados al mismo voltaje para generar un campo eléctrico homogéneo en las dos direcciones de aplicación A y B en una cámara con una disposición de electrodos similar a la de la Figura 1.

Son necesarias siete resistencias 201 y 202 conectadas en serie para generar los potenciales de referencia en esta cámara CHEF con tres electrodos por lado (Figura 3). Las resistencias 201 son del mismo valor, las resistencias 202 tienen la mitad de este valor. La escalera de resistencias 201 y 202 está conectada entre las salidas positiva (+) y negativa (-) de una fuente de alimentación a través de conmutadores o el alternador. Este divisor de voltaje genera los potenciales de referencia que aparecen en los nodos 203 y 204.

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

Los repetidores de voltaje 205 y 206 se muestran, en detalle, en la Figura 4. La base del único transistor 301 de tipo NPN está conectada al nodo 203. El colector del único transistor 301 está conectado a la salida positiva (+) a través de conmutadores. El emisor del único transistor 301 está conectado a los ánodos de dos diodos 302, los

cuales, a su vez, están conectados por el cátodo a los electrodos cuyo potencial corresponde a ese nodo 203 particular.

5 La base del único transistor 303 de tipo PNP está conectada al nodo 204. El colector del único transistor 303 está conectado a la salida negativa (-) a través de conmutadores. El emisor del único transistor 303 está conectado a los cátodos de dos diodos 304, los cuales, a su vez, están conectados por el ánodo a los electrodos cuyo potencial corresponde a ese nodo 204 particular.

10 En la Tabla I se indican los electrodos polarizados con transistores de tipo NPN (repetidor de voltaje 204) y PNP (repetidor de voltaje 205).

15 Los electrodos de los grupos A+ y B+ (Figura 5) están conectados al cátodo de los diodos 401 conectados entre sí por sus ánodos. El ánodo de los diodos 401 está conectado al cátodo de otro diodo 402, el cual, a su vez, está conectado por su ánodo a la salida positiva de la fuente de alimentación a través de conmutadores.

20 Los electrodos de los grupos A- y B- están conectados al ánodo de los diodos 403 conectados entre sí por su cátodo. El cátodo de los diodos 403 está conectado al ánodo de otro diodo 404, el cual, a su vez, está conectado por su cátodo a la salida positiva de la fuente de alimentación a través de conmutadores. Los diodos 402 y 404 garantizan que las ramas que polarizan los electrodos de los grupos A+, A-, B+ y B- tengan las mismas caídas de voltaje provocadas por las uniones PN que el resto de los electrodos del conjunto.

Los diodos 207 (Figura 3) compensan los errores causados por el cambio de polaridad de los transistores y los diodos en el voltaje aplicado a los electrodos.

25 En la Tabla II, se presentan los voltajes teóricos y los voltajes medidos en los electrodos de una cámara CHEF. Los electrodos están colocados en los lados de un hexágono, tal como el de la Figura 2. La separación entre los lados opuestos es de 11,6 cm. La cámara se llenó con 225 ml de solución tampón TBE 0,5x (1x TBE: Tris 89 mM, ácido bórico 89 mM, EDTA 2 mM, pH 8,4) a 20°C. Los voltajes se generaron con un circuito similar al presentado. Las resistencias usadas eran de 470,0 ohmios, dos resistencias se colocaron en paralelo para conseguir la mitad del valor de las resistencias 202. Se usaron transistores MJE340 MJE350 y diodos 1N4007. La energía se obtuvo desde una fuente de alimentación "Macrodrive I", ajustada a un voltaje constante de 120,0 voltios entre las salidas positiva (+) y negativa (-) en las direcciones A y B.

Tabla II

35 Valores teóricos y valores generados por el circuito presentado en los electrodos de una cámara CHEF con 18 electrodos situados en los lados de un hexágono.

Voltajes teóricos (V)	Voltajes reales (V)			
	Dirección A		Dirección B	
118,6	101, 102 y 103: 118,7	115, 114 y 113: 118,7		
108,8	118: 108,8	104: 108,9	116: 108,8	112: 108,8
89,3	117: 89,2	105: 89,2	117: 89,2	111: 89,2
69,8	116: 69,7	106: 69,7	118: 69,7	110: 69,6
50,2	115: 50,2	107: 50,3	101: 50,4	109: 50,3
30,7	114: 30,8	108: 30,8	102: 30,8	108: 30,8
11,2	113: 11,2	109: 11,2	103: 11,2	107: 11,2
1,4	112, 111 y 110: 1,4	104, 105 y 106: 1,4		

40 Los números de electrodo, según la Figura 2, están en negrita.

El voltaje teórico se calculó considerando una caída de voltaje típica de 0,7 voltios en cada unión PN (en los diodos y entre la base y el emisor de los transistores) de los elementos semiconductores de silicio. Para el cálculo, los transistores se consideraron como elementos ideales con corriente de base cero.

45 Ejemplo 2. Circuito para polarizar los electrodos puntuales de una cámara hexagonal con 36 electrodos distribuidos de manera no uniforme.

50 En la Figura 6, se muestra un grupo de electrodos puntuales 501 a 536 colocados sobre un hexágono regular, con seis electrodos por cada lado. En una dirección de la aplicación de campo eléctrico (denominada A), los electrodos 501 a 506 (denominados grupo A+) están polarizados con el potencial máximo, cercano al potencial de la salida positiva de la fuente de alimentación. Los electrodos 519 a 524 (denominados grupo A-) están polarizados con el

potencial mínimo, cercano a 0 voltios. El resto de los electrodos están organizados en pares (Tabla III). Cada electrodo del mismo par será polarizado con el mismo voltaje, uno proporcional a la distancia desde cada par a los electrodos del grupo A-.

5 En la otra dirección de la aplicación del campo eléctrico (denominada B) los electrodos 525 a 530 (denominados grupo B+) están polarizados con el potencial máximo, cercano al potencial de la salida positiva de la fuente de alimentación. Los electrodos 507 a 512 (denominados grupo B) están polarizados con el potencial mínimo, cercano a 0 voltios. El resto de los electrodos están organizados en pares (Tabla III). Cada electrodo del mismo par estará polarizado con el mismo voltaje, uno proporcional a la distancia de cada par a los electrodos del grupo B-.

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

15 Para generar los potenciales de referencia en esta cámara CHEF, con seis electrodos por lado, se necesitan trece resistencias 601, 602 y 603 conectadas en serie (Figura 7). Los valores de resistencia de las resistencias 601, 602 y 603 deberían ser elegidos con el fin de que el potencial en cada electrodo sea proporcional a la distancia entre cada electrodo y los electrodos de los grupos A- y B- para cada una de las direcciones A y B, respectivamente. En este caso, las resistencias 601 eran de 348 ohmios, las resistencias 602 eran de 470 ohmios y las resistencias 603 eran de 235 ohmios. La cadena de resistencias 601, 602 y 603 están conectadas a los potenciales positivo (+) y negativo (-) de una fuente de alimentación a través de conmutadores. Este divisor de voltaje genera los potenciales de referencia que aparecen en los nodos 604 y 605. Los repetidores de voltaje 606 y 607 toman el voltaje de los nodos 604 y 605 de referencia para polarizar apropiadamente los electrodos en las direcciones A y B. Los repetidores de voltaje 606 y 607 son idénticos a los repetidores 205 y 206 (Figura 3). Los diodos 608 se insertan en serie con las resistencias para corregir los errores en el voltaje aplicado a los electrodos causados por el cambio de polaridad de los transistores activos en el interior de los repetidores de voltaje 606 y 607.

Tabla III

Valores teóricos y valores generados por el circuito presentado en los electrodos de una cámara CHEF con 36 electrodos colocados en los lados de un hexágono				
Voltajes teóricos (V)	Voltajes reales (V)			
	Dirección A		Dirección B	
118,80	501, 502, 503, 504, 505, 506:	118,75	525, 526, 527, 528, 529, 530:	118,75
113,18	536:	113,15	507:	113,15
104,85	535:	104,70	508:	104,70
93,62	534:	93,40	509:	93,40
85,28	533:	85,05	510:	85,05
74,05	532:	73,90	511:	73,85
65,72	531:	65,65	512:	65,55
54,48	530:	54,40	513:	54,30
46,15	529:	46,15	514:	46,15
34,92	528:	34,90	515:	34,95
26,58	527:	26,60	516:	26,60
15,35	526:	15,35	517:	15,35
7,02	525:	6,95	518:	6,95
1,4	524, 523, 522, 521, 520, 519:	1,4	512, 511, 510, 509, 508, 507:	1,4

30 Los diodos se usan en un circuito similar al presentado en el Ejemplo 1 para polarizar los electrodos de los grupos A+, A-, B+ y B- (Figura 8). En este caso, se usan seis diodos 701 y 703 para polarizar los electrodos de los grupos A+ y A-, ya que este conjunto de electrodos particular presenta seis diodos por cada lado. La función de los diodos 702 y 704 es similar a las del Ejemplo 1, para garantizar que el potencial de todos los electrodos sea afectado por el mismo número de caídas de voltaje.

35 Las líneas muestran el número y el voltaje de los electrodos que deberían ser polarizados al mismo potencial para generar un campo eléctrico homogéneo en las dos direcciones de aplicación A y B. La primera columna muestra el potencial teórico que corresponde a cada par de electrodos. El número de electrodos, según la Figura 6, aparece en negrita. El voltaje teórico se calculó con las mismas consideraciones que en el Ejemplo 1.

40 En la Tabla III, se presentan los voltajes teóricos y el medido en los electrodos de una cámara CHEF. Los electrodos están colocados en los lados de un hexágono, tal como el de la Figura 6. La separación entre los lados

opuestos es de 11,6 cm. La cámara se llenó con 225 ml de solución tampón TBE 0,5x (1x TBE: Tris 89 mM, ácido bórico 89 mM, EDTA 2 mM, pH 8,4) a 20°C. Los voltajes se generaron con un circuito similar al presentado. La energía se obtuvo desde una fuente de alimentación "Macrodrive I", cuya salida se ajustó a un voltaje constante de 120,2 voltios entre las salidas positiva (+) y negativa (-) en las direcciones A y B.

Los ejemplos que se han presentado son ilustrativos de la presente invención y no constituyen limitaciones a su alcance. Cámaras de diferente tamaño y forma, número y distribución de electrodos, pueden ser polarizadas con circuitos similares al mostrado. Esto se realiza variando sólo el número de elementos de circuito: transistores, diodos y resistencias, así como el valor de la resistencia de estas últimas, y estarían incluidos en el alcance de la presente invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS:

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

Figura 2. Esquema de la distribución de los 18 electrodos de una cámara CHEF hexagonal. Los símbolos A+ y A- indican los electrodos conectados a las salidas positiva y negativa de una fuente de alimentación (a través de un circuito alternador) para establecer un campo eléctrico en la dirección. Los símbolos B+ y B- indican los electrodos conectados a las salidas positiva y negativa de una fuente de alimentación (a través de un circuito alternador) para establecer un campo eléctrico en la dirección B.

Figura 3. Divisor de voltaje formado por diodos y resistencias, que está conectado a las salidas de la fuente de alimentación (a través de un circuito alternador). Este circuito genera los voltajes que polarizan parte de los electrodos de una cámara CHEF hexagonal con 18 electrodos. Los repetidores de voltaje están conectados a los nodos formados entre las resistencias.

Figura 4. Repetidores de voltaje. La base de los transistores únicos está conectada a los nodos del divisor de voltaje y los emisores están conectados a dos diodos que, a su vez, están conectados a un par de electrodos que deberían ser polarizados al mismo potencial. En la parte superior se presenta un repetidor de voltaje con un único transistor NPN cuyo colector está conectado a la salida positiva de una fuente de alimentación (a través de un circuito alternador). En la parte inferior se muestra un repetidor de voltaje con un único transistor PNP cuyo colector está conectado a la salida negativa de una fuente de alimentación (a través de un circuito alternador).

Figura 5. A la izquierda se muestra el circuito que polariza los electrodos de los grupos A+ y B+ en un modelo hexagonal de cámara CHEF con 18 electrodos. El ánodo del diodo situado en la parte superior está conectado a la salida positiva de una fuente de alimentación a través de conmutadores. A la derecha se muestra el circuito que polariza los electrodos de los grupos A- o B- en un modelo hexagonal de cámara CHEF con 18 electrodos. El cátodo del diodo situado en la parte inferior está conectado a la salida negativa de una fuente de alimentación a través de conmutadores.

Figura 6. Esquema de la distribución de los 36 electrodos de una cámara CHEF hexagonal. Los símbolos A+ y A- indican los electrodos conectados a las salidas positiva y negativa de una fuente de alimentación (a través de un circuito alternador) para establecer un campo eléctrico en la dirección. Los símbolos B+ y B- indican los electrodos conectados a las salidas positiva y negativa de una fuente de alimentación (a través de un circuito alternador) para establecer un campo eléctrico en la dirección B.

Figura 7. Divisor de voltaje formado por diodos y resistencias, que está conectado a las salidas de la fuente de alimentación (a través de un circuito alternador). Este circuito genera los voltajes que polarizan parte de los electrodos de una cámara CHEF hexagonal con 36 electrodos. Los repetidores de voltaje están conectados a los nodos formados entre las resistencias.

Figura 8. En la parte superior, se muestra el circuito que polariza los electrodos de los grupos A+ o B+ en un modelo hexagonal de cámara CHEF con 36 electrodos. El ánodo del diodo situado en la parte superior del circuito está conectado a la salida positiva de una fuente de alimentación a través de conmutadores. En la parte inferior, se muestra el circuito que polariza los electrodos de los grupos A- o B- en un modelo hexagonal de cámara CHEF con 36 electrodos. El cátodo del diodo situado en la parte inferior del circuito está conectado a la salida negativa de una fuente de alimentación a través de conmutadores.

VENTAJAS DE LAS SOLUCIONES PROPUESTAS

1) Los electrodos de las cámaras de tipo CHEF con forma, tamaño, número y distribución diferentes de los electrodos se polarizan correctamente.

- 5
- 2) El circuito es más simple que los sistemas anteriores de fijación de voltaje, sin embargo, el patrón de voltaje generado en los electrodos es tan preciso o más que el generado por los sistemas anteriores.
 - 3) No es posible un cortocircuito entre las salidas positiva y negativa de las fuentes de alimentación usadas
 - 4) Se consigue una polarización igual de los pares de electrodos situados en la misma línea equipotencial teórica.
 - 5) Los circuitos que generan el campo eléctrico en las dos direcciones son independientes.
 - 6) El número de transistores usados es al menos tres veces menor que en los sistemas anteriores.
 - 7) El circuito es más económico y es más fácil de reparar y de mantener.

REIVINDICACIONES

1. Circuito para fijar los voltajes en los electrodos de las cámaras de Electroforesis en Gel en Campo Pulsante del Sistema de Campo Eléctrico Homogéneo con Contornos Limitados y para generar dos campos eléctricos homogéneos, de intensidades idénticas pero de orientación diferente, cuando se combina con:

- una fuente de alimentación con salidas positiva y negativa;
- un alternador con dos salidas positivas y dos salidas negativas y
- una cámara de electroforesis llena con una solución tampón,
- una cámara de electroforesis que posee un conjunto de electrodos situados en los "m" lados de un polígono regular que tiene "k" electrodos por lado, donde el lado L_1 es seleccionado arbitrariamente y se hace coincidir con el eje "X" de un plano cartesiano, el lado $L_{m/2+1}$ es paralelo al lado L_1 y los otros lados, denominados lados "C" y "D", están situados a la izquierda y a la derecha de los lados L_1 y $L_{m/2+1}$, respectivamente, en el que los electrodos $E_{iC}-E_{iD}$ están separados homogéneamente en cada lado del polígono, existiendo, de esta manera, "n" pares P_i de electrodos $E_{iC}-E_{iD}$ formados por electrodos situados a la misma distancia desde el lado L_1 , donde "n" es igual a $k \cdot (m-2)/2$ e "i" es un número natural entre 1 y "n",

circuito que está formado por

- dos circuitos de fijación idénticos y cada circuito establece, de manera independiente, una de las dos posibles orientaciones del campo eléctrico mediante el establecimiento de los potenciales en los electrodos del polígono regular que homogeneizan el campo eléctrico, potenciales en los que los cero voltios corresponden a los electrodos situados en el lado L_1 , lado L_1 que es otro lado del polígono regular cuando el campo eléctrico es conmutado
- diodos para conectar los electrodos situados en los lados L_1 y $L_{m/2+1}$ a las salidas negativa y positiva de la fuente de alimentación, respectivamente, en cada orientación del campo eléctrico
- resistencias y diodos para generar referencias de voltaje en el interior de cada circuito de amortiguación para polarizar los electrodos $E_{iC}-E_{iD}$ de cada par P_i de electrodos
- transistores para estabilizar los potenciales en los electrodos $E_{iC}-E_{iD}$ de cada par P_i de electrodos independientemente de los cambios de conductividad de la solución tampón, pero los dos electrodos $E_{iC}-E_{iD}$ de cada par P_i de electrodos son alimentados por un único transistor
- pares de diodos para conectar, de manera permanente, los dos electrodos $E_{iC}-E_{iD}$ de cada par P_i de electrodos al mismo nodo de la referencia de voltaje a través de dichos transistores únicos y para polarizar estas dos electrodos $E_{iC}-E_{iD}$ al mismo potencial en una orientación del campo eléctrico, pero para aislar eléctricamente dichos dos electrodos $E_{iC}-E_{iD}$ en la otra orientación del campo
- diodos para compensar los errores en el voltaje aplicado a los electrodos
- diodos para conectar, de manera permanente, los dos circuitos independientes al mismo conjunto de electrodos.

2. Circuito según la reivindicación 1, que comprende que cada circuito de fijación está conectado a la fuente de alimentación en una manera en la que solo uno de los circuitos de fijación recibe energía eléctrica en cada momento.

3. Circuito según la reivindicación 1, que comprende que cada electrodo situado en el lado L_1 está conectado al ánodo de un diodo, los cátodos de estos diodos están unidos entre sí y conectados al ánodo de un segundo diodo y el cátodo de este segundo diodo está conectado a la salida negativa de la fuente de alimentación.

4. Circuito según la reivindicación 1, que comprende que cada electrodo situado en el lado $L_{m/2+1}$ está conectado al cátodo de un diodo, los ánodos de estos diodos están unidos entre sí y están conectados al cátodo de un segundo diodo y el ánodo de este segundo diodo está conectado a la salida positiva de la fuente de alimentación.

5. Circuito según la reivindicación 1, que comprende que esas resistencias y diodos para generar referencias de voltaje forman un divisor de voltaje realizado con "n+1" resistencias R_i y hasta diez diodos conectados a través de las salidas positiva y negativa de la fuente de alimentación, donde "n" es igual a $k \cdot (m-2)/2$.

6. Circuito según la reivindicación 1, que comprende que dicho único transistor está en una configuración seguidor de emisor, su base está conectada a uno de los nodos de la referencia de voltaje, su emisor al par P_i de electrodos correspondiente a través de un par de diodos, un transistor que es de un tipo PNP, con su colector conectado a la salida negativa de la fuente de alimentación cuando "i" es un número natural entre 1 y $n/2$ y es un transistor de tipo NPN, con su colector conectado a la salida positiva de la fuente de alimentación cuando "i" es un número natural entre $[(n/2)+1]$ y n.

7. Circuito según la reivindicación 1, que comprende que cada par de diodos está formado por dos diodos cuyos cátodos están conectados al emisor del transistor correspondiente y cuyos ánodos están conectados a los dos electrodos del par P_i de electrodos correspondiente, cuando "i" es un número natural entre 1 y $n/2$.
- 5
8. Circuito según la reivindicación 1, que comprende que cada par de diodos está formado por dos diodos cuyos ánodos están conectados al emisor del transistor correspondiente y cuyos cátodos están conectados a los dos electrodos del par P_i de electrodos correspondiente, cuando "i" es un número natural entre $[(n/2)+1]$ y n.
- 10
9. Circuito según las reivindicaciones 1 y 5, que comprende que dichos diodos para compensar los errores en el voltaje aplicado a los electrodos son los diodos que forman un divisor de voltaje para generar referencias de voltaje.
10. Circuito según las reivindicaciones 1 y 3, que comprende que dichos diodos para compensar los errores en el voltaje aplicado a los electrodos son el segundo diodo conectado entre los cátodos de los diodos conectados a los electrodos del lado L_1 y a la salida negativa de la fuente de alimentación.
- 15
11. Circuito según las reivindicaciones 1 y 4, que comprende que dichos diodos para compensar los errores en el voltaje aplicado a los electrodos son el segundo diodo conectado entre los ánodos de los diodos conectados a los electrodos del lado $L_{m/2+1}$ y a la salida positiva de la fuente de alimentación.
- 20
12. Circuito según la reivindicación 1, que comprende que dichos diodos para conectar permanentemente los dos circuitos independientes al mismo conjunto de electrodos son los diodos conectados a los electrodos.
- 25
13. Circuito según la reivindicación 1, que requiere una cámara de electroforesis que posee un conjunto de electrodos situados en los "m" lados de un polígono regular con "k" electrodos por lado, en el que "m" es un número natural par entre 4 y 50 y "k" es un número natural entre 1 y 10.

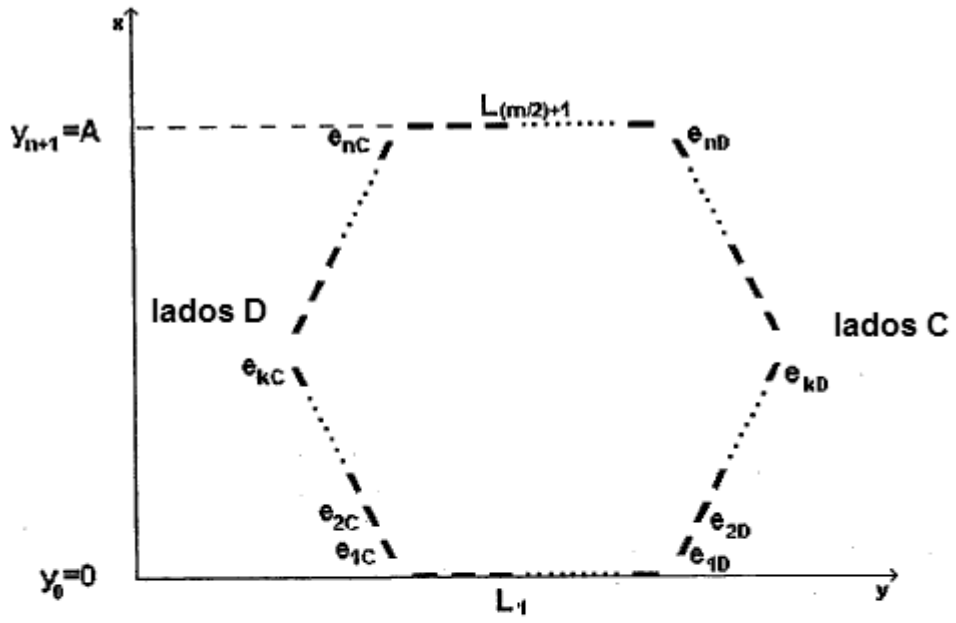


Figura 1

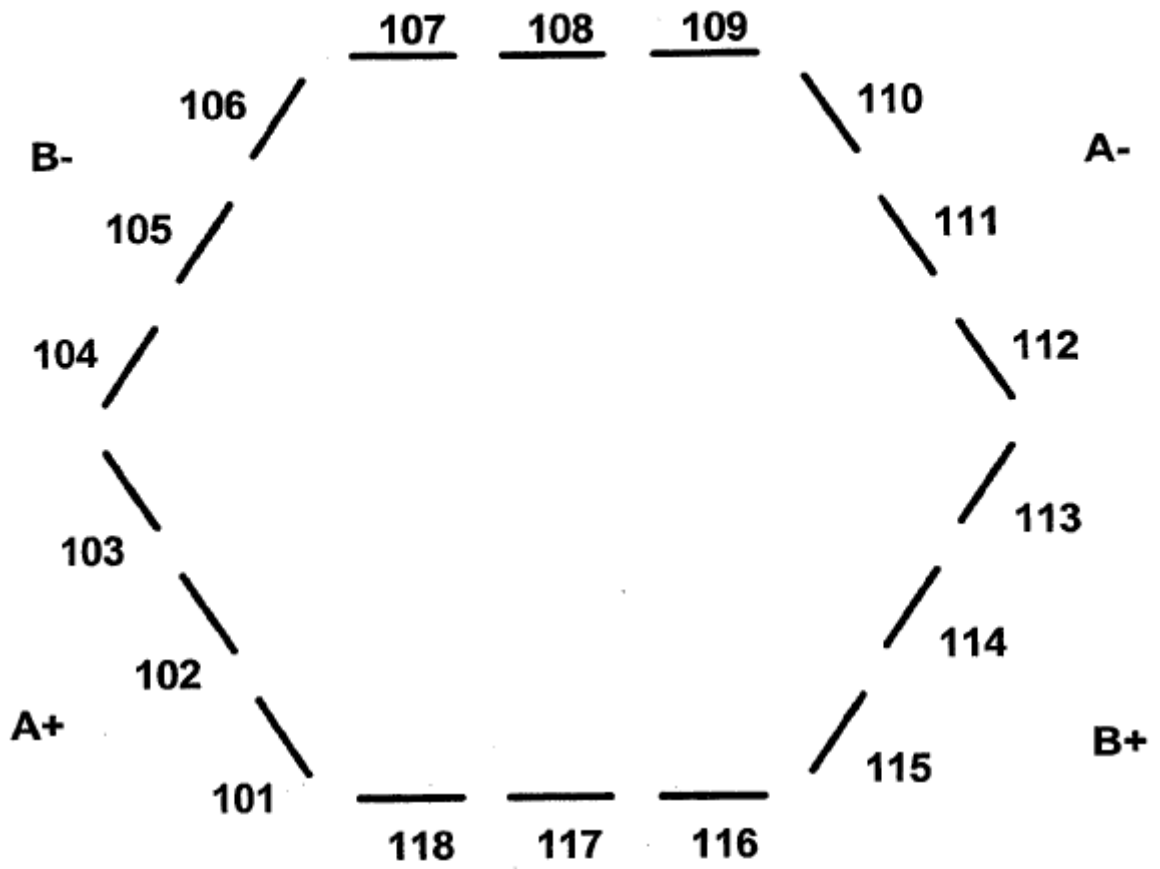


Figura 2

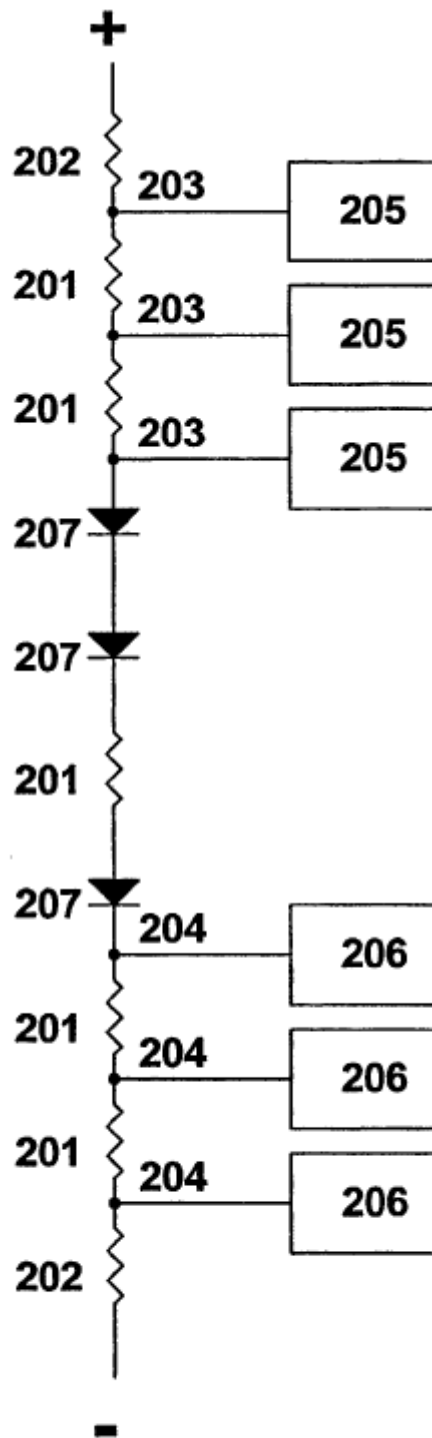


Figura 3

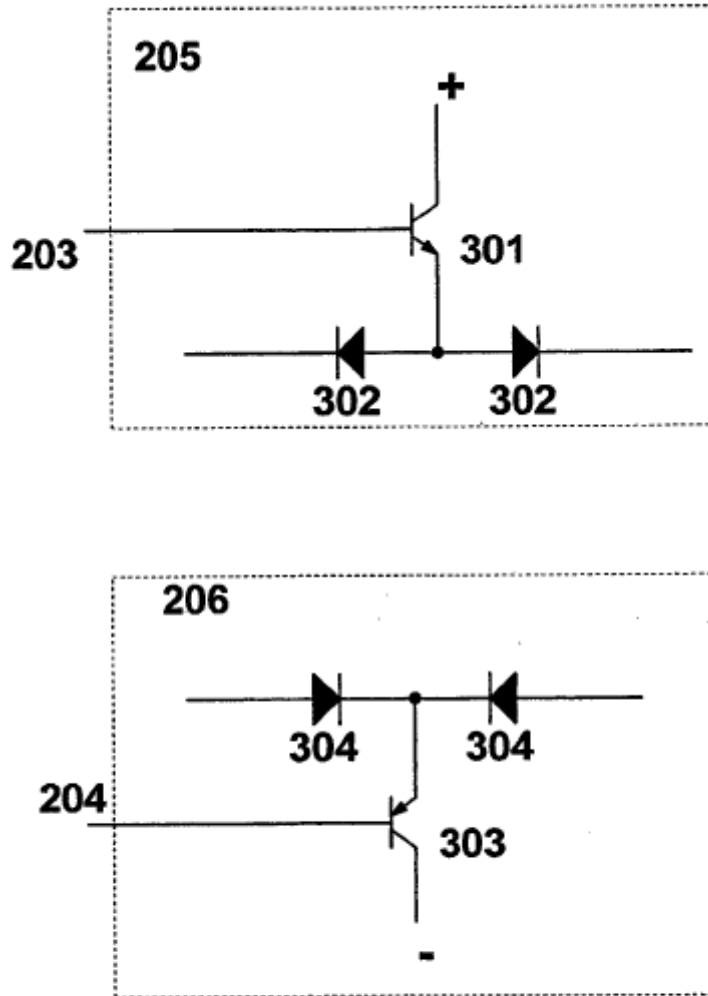


Figura 4

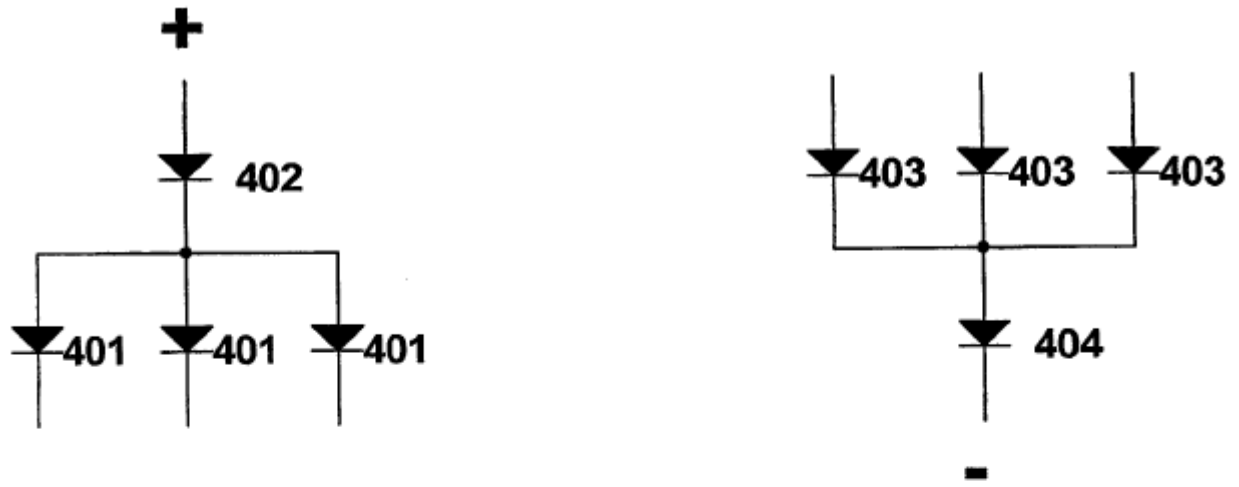


Figura 5

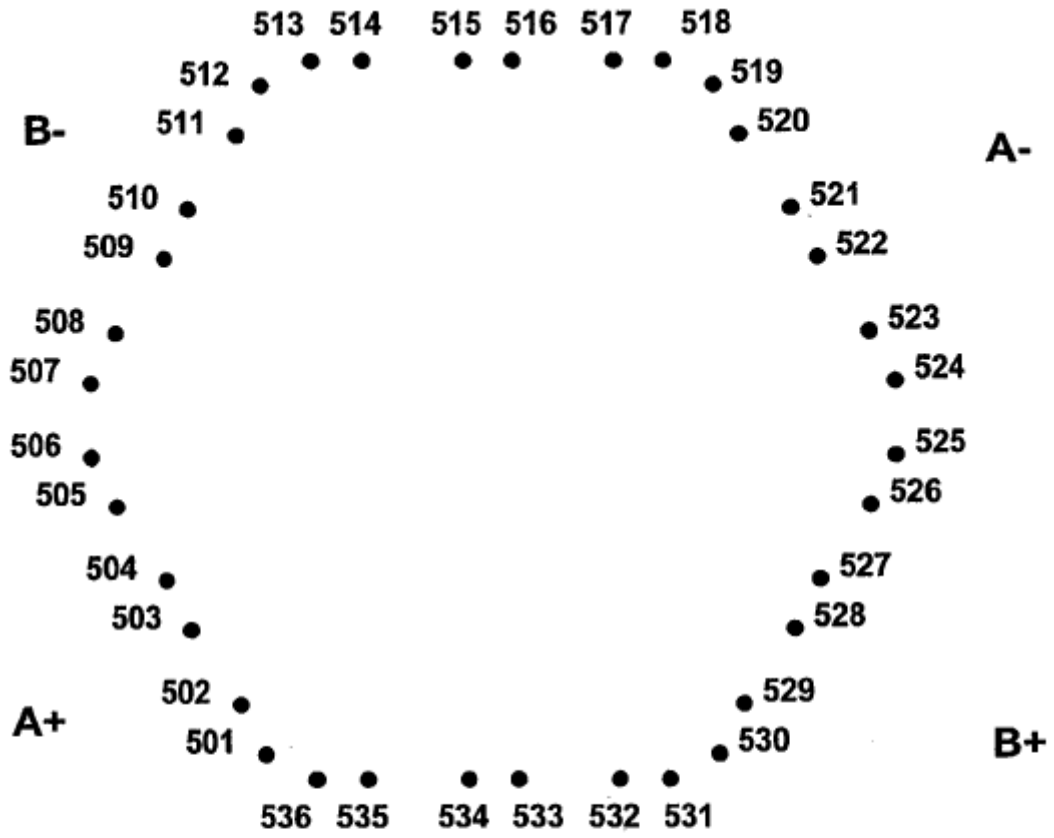


Figura 6

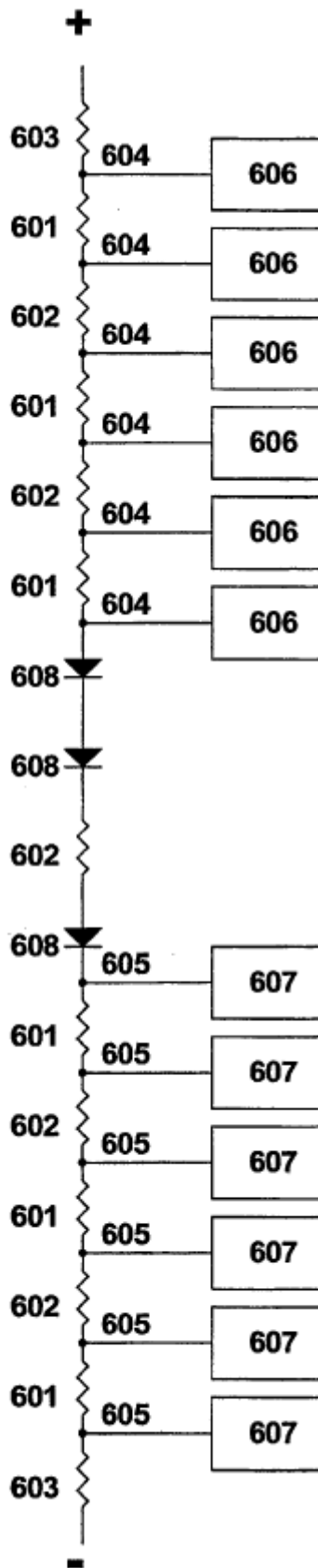


Figura 7

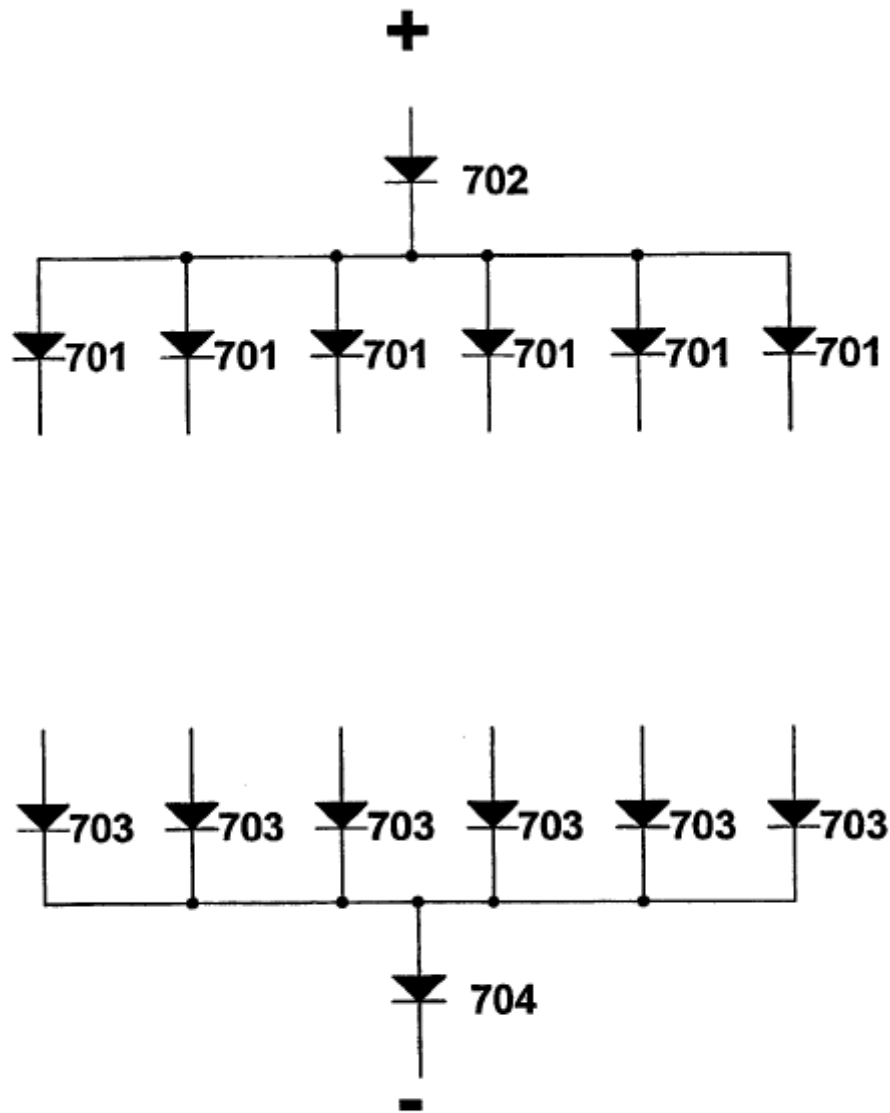


Figura 8