

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 644 697**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2006.01)

G01N 21/33 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.08.2013 PCT/EP2013/068011**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.03.2014 WO14033268**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.08.2013 E 13759163 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.08.2017 EP 2890812**

54 Título: **Caracterización óptica de ADN y/o ARN**

30 Prioridad:

30.08.2012 GB 201215484

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

30.11.2017

73 Titular/es:

**TRINEAN NV (100.0%)
Dulle-Grietlaan 17 bus 3
9050 Gentbrugge, BE**

72 Inventor/es:

BOONEFAES, TOM

74 Agente/Representante:

ILLESCAS TABOADA, Manuel

ES 2 644 697 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

Caracterización óptica de ADN y/o ARN

Campo de la invención

5 La invención se refiere al campo de detección y/o caracterización de ADN/ARN. Más particularmente, se refiere a procedimientos y sistemas para la detección y/o caracterización de muestras que contienen ADN y/o ARN a través de mediciones ópticas de muestras, tales como mediciones de absorción o transmisión.

Antecedentes de la invención

10 La caracterización de las muestras se utiliza en una amplia variedad de aplicaciones, tales como por ejemplo en el campo de la biología, la biotecnología, la química y para fines clínicos y médicos. Una clase cada vez más popular de muestras que es necesario caracterizar son muestras que contienen ADN y/o ARN.

15 Aunque existen numerosas técnicas de análisis para la calificación y cuantificación de muestras, solo unas pocas técnicas de análisis son tan simples de realizar, rápidas y precisas como la espectrofotometría. Un ejemplo de espectrofotometría es la espectroscopia de absorbanza UV-VIS. Durante dichos experimentos, las muestras se irradian con radiación UV-VIS de diferentes longitudes de onda, se detecta la radiación que queda después del paso a través de la muestra y se determina la absorbanza en diferentes longitudes de onda. Como los componentes particulares mostrarán una absorbanza específica a longitudes de onda concretas, dicho perfil de absorbanza específico se puede usar como huella digital que, al compararla con espectros de referencia, permita identificar los componentes. Cuando se estudian muestras más complejas, las características de absorbanza en el espectro pueden superponerse significativamente, haciendo la interpretación de espectros sustancialmente más difícil.

20 Para obtener las muestras adecuadas que se caracterizarán por espectroscopia UV-VIS, actualmente, a menudo se utilizan diferentes tipos de procedimientos de extracción. Estos procedimientos de extracción de ADN y/o ARN utilizan diferentes reactivos y, en particular, los diluyentes finales pueden diferir significativamente en la composición y/o en la capacidad de tamponamiento de las muestras «estándar». El diluyente típicamente se optimiza específicamente para un rendimiento óptimo en un procedimiento de extracción. Estos diferentes reactivos y diluyentes que se usan para extraer la muestra apropiada que contiene ácido nucleico típicamente influyen considerablemente en las condiciones finales de estas muestras, lo que se traduce en condiciones variables generalmente desconocidas. Como estas condiciones variables desconocidas pueden influir considerablemente en los resultados de la caracterización, es preciso que estas condiciones se tengan en cuenta o se compensen. Especialmente si se requiere una cuantificación precisa y un análisis espectral con niveles bajos de ácidos nucleicos, es preciso tener en cuenta estas condiciones variables, ya que en estos casos la condición química en la que se realiza la medición tiene un impacto significativo en la caracterización espectroscópica UV-VIS.

35 Una solución que se explotó en el pasado fue la dilución de la muestra con una solución tampón adecuada para dar, más o menos, condiciones estándar. Sin embargo, esto típicamente introducirá una etapa adicional (reduciendo la comodidad del análisis y el rendimiento del mismo). Lo que es más importante, esto puede introducir errores de dilución.

40 En otras soluciones, se ignoró la influencia de las condiciones de tamponamiento en la caracterización espectral, lo que dio lugar a una cuantificación inexacta del contenido de ADN y/o ARN de las muestras, haciendo de este modo la técnica por ahora menos fiable para la caracterización de muestras que contienen ADN y/o ARN. Montoye describe en «Specific RNA quantification using cDrop: Comparison with UV absorbance, the Ribogreen fluorescent assay and the Agilent Bioanalyser» un procedimiento, sistema y programa informático para determinar la cantidad de ARN en una mezcla de ADN y ARN usando la espectroscopia UV-VIS.

Montoye T. et al. describen en «Specific dsDNA quantification - UV/VIS-based cDrop method vs. Picogreen fluorescent assay» tener en cuenta las soluciones tampón para cuantificar el ADNbc. Cuando las soluciones tampón parecen tener absorbanza UV intrínseca se incluye, entonces, un espectro de referencia específico en la lista de referencias.

45 Resumen de la invención

Es un objetivo de los modos de realización de la presente invención proporcionar buenos procedimientos y sistemas para analizar muestras que contienen ADN y/o ARN.

Es una ventaja de los modos de realización de acuerdo con la presente invención que se pueda realizar una cuantificación precisa de ADN y/o ARN, independientemente de las condiciones de tamponamiento.

50 Es una ventaja de los modos de realización de acuerdo con la presente invención que la cuantificación de ADN y/o ARN se pueda realizar de tal manera que dependa menos o no dependa de las condiciones de la muestra en las que está presente el ADN y/o ARN.

Es una ventaja de los modos de realización de acuerdo con la presente invención que la cuantificación de ADN y/o ARN se pueda realizar de tal manera que dependa menos o no dependa de las concentraciones de las soluciones tampón y/o las concentraciones de sal de la muestra en la que está presente el ADN y/o ARN.

5 Es una ventaja de los modos de realización de acuerdo con la presente invención que la cuantificación de ADN y/o ARN pueda realizarse sin necesidad de llevarlos a condiciones adecuadas durante la carga o manipulación de la muestra, por ejemplo, evitando que se realicen etapas adicionales durante dicha carga o manipulación.

Es una ventaja de los modos de realización de acuerdo con la presente invención que la compensación de los efectos de las condiciones de tamponamiento para el tamponamiento del ADN y/o ARN durante la preparación de la muestra se pueda realizar automáticamente y/o de forma automatizada.

10 Es una ventaja de los modos de realización de acuerdo con la presente invención que se pueden proporcionar procedimientos y sistemas en los que la compensación de los efectos de las condiciones de tamponamiento pueda realizarse mediante procesamiento posterior del espectro UV-VIS obtenido, lo que se traduce en resultados precisos sin necesidad de controlar las condiciones de las soluciones tampón, por ejemplo, los efectos de las sales, de la muestra que contiene ADN y/o ARN.

15 Las técnicas de cuantificación basada en UV-Vis tradicionalmente distinguen ADN y ARN basándose en la relación de la absorción a 260 nm con respecto a la absorción a 280 nm. Sin embargo, el efecto de las soluciones tampón y/o sales sobre esta relación puede dar lugar a una evolución de la relación A260/A280 para el ARN de 2,05 a menos de 1,8, un valor que se acepta como indicativo de ADN puro. Para modos de realización, de acuerdo con la presente invención, se descubrió sorprendentemente que el uso de un procedimiento y/o sistema que tenga en cuenta la deformación espectral debida a los efectos de las soluciones tampón y/o las sales permite distinguir correctamente ARN y ADN en mezclas en condiciones variables. El objetivo anterior se consigue mediante un procedimiento y un dispositivo de acuerdo con la presente invención. La presente invención se refiere a un procedimiento para caracterizar una muestra que comprende al menos ADN y/o ARN, comprendiendo el procedimiento la obtención de una medición espectroscópica UV-VIS de la muestra que comprende al menos ADN y/o ARN, y la cuantificación de una cantidad de ADN y/o ARN o la determinación de una relación de ADN con respecto a ARN presente en la muestra, teniendo en cuenta un efecto de las soluciones tampón y/o sales en la medición espectroscópica UV-VIS independientemente del contenido real de solución tampón y sal de la muestra, basándose en datos espectrales de referencia que incluyen información espectral para efectos de las soluciones tampón y/o sales. Es una ventaja de los modos de realización de acuerdo con la presente invención que se puede obtener una compensación de efectos no deseados de las soluciones tampón y/o sales sobre los datos de medición espectroscópica UV-VIS de ARN y/o ADN, basándose en datos espectrales de referencia y basándose en la medición espectroscópica UV-VIS, independientemente de la concentración de soluciones tampón y/o de sal, y de forma automatizada y/o automática.

20

25

30

El procedimiento, asimismo, puede comprender la recuperación de dichos datos espectrales de referencia que incluyen información espectral de las contribuciones de las soluciones tampón y/o sales desde una memoria. Es una ventaja de los modos de realización que los datos espectrales de referencia que incluyen información espectral de las contribuciones de las soluciones tampón y/o sales puedan almacenarse, de manera que para un tipo de instrumento espectroscópico particular, la técnica para tener en cuenta contribuciones de las soluciones tampón y/o sales puede implementarse de una manera basada en un programa informático, sin la necesidad de medición continua o de ajustar el tamponamiento de las muestras, antes de la medición.

35

La determinación de un ADN y/o ARN presentes puede comprender el uso de datos de referencia representativos de los datos del espectrofotómetro UV-VIS para al menos dos muestras que comprendan contenido de ADN y/o ARN y que tengan un contenido distinto de soluciones tampón y/o sal. En otras palabras, los datos espectrales de referencia que incluyen información espectral de efectos de las soluciones tampón y/o sales son o se basan en datos de referencia representativos de datos del espectrofotómetro UV-VIS para al menos dos muestras que comprendan contenido de ADN y/o ARN y que tengan contenido distinto de solución tampón y/o sal.

40

45

Al menos parte de los datos espectrales de referencia que incluyen información espectral de los efectos de las soluciones tampón y/o sales puede determinarse basándose en un procedimiento que comprende obtener información previa relativa al contenido de ADN y/o ARN y el contenido de solución tampón y/o sal para una pluralidad de muestras que tienen diferente contenido de soluciones tampón y/o sales, obtener datos del espectrofotómetro UV-VIS para dichas muestras, definir un número de componentes coincidentes que contribuyan a los datos del espectrofotómetro UV-VIS, comprendiendo el número de componentes coincidentes uno o más componentes asignados a constituyentes de ARN y/o de ADN de esa una o más muestras y comprendiendo el número de componentes coincidentes al menos un componente que no puede asignarse a constituyentes conocidos de esa una o más muestras y que se considera representativo de efectos de los efectos de las soluciones tampón y/o sales sobre las contribuciones espectrales de ARN y/o ADN, y utilizando la información previa de esa una o más muestras relativa a sus constituyentes y utilizando los datos del espectrofotómetro UV-VIS, estimar la composición de los constituyentes y las contribuciones de los componentes a los datos del espectrofotómetro UV-VIS correspondientes al número de componentes de esa una o más muestras minimizando un residuo entre los datos del espectrofotómetro UV-VIS y un ajuste basado en dicha composición de los constituyentes y dichas contribuciones de los componentes, obteniéndose por lo tanto información relativa a uno o más componentes asignados a los constituyentes conocidos de esa una o más muestras y relativa a

50

55

60

5 al menos un componente que no puede asignarse a los constituyentes conocidos de esa una o más muestras y que se considera representativo de los efectos de los efectos de los las soluciones tampón y/o sales sobre las contribuciones espectrales de ARN y/o ADN. Es una ventaja de los modos de realización de acuerdo con la presente invención que un procedimiento para derivar los datos espectrales de referencia que incluyen información espectral de efectos de las soluciones tampón y/o sales pueda determinarse usando un algoritmo particular, que se traduce en una manera estándar para determinar dicha información.

10 Al menos parte de los datos espectrales de referencia que incluyen información espectral de efectos de las soluciones tampón y/o sales puede determinarse a partir de un procedimiento que comprende obtener datos del espectrofotómetro UV-VIS de al menos dos muestras que comprenden contenido de ADN y/o ARN y que tienen distinto contenido de soluciones tampón y/o sales, determinar un espectro de diferencia basado en los datos del espectrofotómetro UV-VIS para esas al menos dos muestras y determinar al menos parte de los datos espectrales de referencia basados en dicho espectro de diferencia.

Los datos espectrales de referencia que incluyen información espectral de los efectos de las soluciones tampón y/o sales pueden representar una curva no lineal.

15 La muestra puede comprender ARN y la cuantificación puede comprender la cuantificación de una cantidad de ARN en la muestra.

20 La presente invención también se refiere a un sistema para caracterizar una muestra que comprende al menos ADN y/o ARN, comprendiendo el sistema un medio de entrada para obtener una medición espectroscópica UV-VIS de la muestra que comprende al menos ADN y/o ARN y un procesador adaptado para cuantificar una cantidad de ADN y/o ARN o para determinar una relación del ADN con respecto al ARN presente en la muestra basándose la medición espectroscópica UV-VIS obtenida, teniendo en cuenta un efecto de los las soluciones tampón y/o sales en la medición espectroscópica UV-VIS, independientemente del contenido real de solución tampón y sal de la muestra, basándose en datos espectrales de referencia que incluyan información espectral de efectos de las soluciones tampón y/o sales. Los datos espectrales de referencia que incluyen información espectral de efectos de las soluciones tampón y/o sales son o se basan en datos de referencia representativos de datos del espectrofotómetro UV-VIS para al menos dos muestras que comprendan contenido de ADN y/o ARN y que tengan contenido distinto de solución tampón y/o sal.

El sistema puede estar adaptado para realizar un procedimiento como se describe en el presente documento.

La presente invención también se refiere al uso de un procedimiento como se describe en el presente documento para cuantificar una cantidad de ARN en una muestra.

30 La presente invención también se refiere al uso de un procedimiento como se describe en el presente documento, para determinar una fracción de ARN en una mezcla de ARN/ADN en una muestra.

La presente invención también se refiere a un producto de programa informático para realizar, si se implementa en una unidad de procesamiento, un procedimiento como se describe en el presente documento.

35 La presente invención se refiere también a un procedimiento para actualizar un espectrofotómetro, comprendiendo el procedimiento el almacenamiento de datos espectrales de referencia que incluyen información espectral de efectos de las soluciones tampón y/o sales en una memoria en un procesador del espectrofotómetro, y la instalación de un producto de programa informático como se describe en el presente documento en el sistema del espectrofotómetro.

40 Aspectos particulares y preferentes de la invención se exponen en las reivindicaciones independientes y dependientes adjuntas. Las características de las reivindicaciones dependientes se pueden combinar con las características de las reivindicaciones independientes y con las características de otras reivindicaciones dependientes según sea apropiado y no simplemente como se exponen explícitamente en las reivindicaciones.

Estos y otros aspectos de la invención serán evidentes y se aclararán con referencia al modo o los modos de realización descritos a continuación.

Breve descripción de los dibujos

45 La figura 1 ilustra un ejemplo de procedimiento para caracterizar muestras que comprenden ADN y/o ARN de acuerdo con un modo de realización de la presente invención.

La figura 2 ilustra un procedimiento para obtener datos espectroscópicos de referencia que incluyen información espectral relativa a la deformación y/o desplazamiento debido a las soluciones tampón y/o sales, como se puede usar en un modo de realización de acuerdo con la presente invención.

50 La figura 3 ilustra un sistema para caracterizar una muestra que comprende ADN y/o ARN, de acuerdo con un modo de realización de la presente invención.

La figura 4 ilustra los resultados de medición de densidades ópticas de ARN y ADN, que ilustran características y ventajas de modos de realización de la presente invención.

La figura 5 ilustra un ejemplo del desplazamiento del espectro de absorción UV-VIS hacia longitudes de onda más largas tras la dilución, como se puede compensar para el uso de modos de realización de la presente invención.

Los dibujos son solo esquemáticos y no limitativos. En los dibujos, el tamaño de algunos de los elementos puede estar exagerado y no dibujado a escala para fines ilustrativos.

5 Cualquier signo de referencia en las reivindicaciones no se interpretará como limitativo del alcance.

En los diferentes dibujos, los mismos signos de referencia se refieren a elementos iguales o análogos.

Descripción detallada de modos de realización ilustrativos

10 La presente invención se describirá con respecto a modos de realización particulares y con referencia a ciertos dibujos, pero la invención no está limitada a los mismos, sino solo por las reivindicaciones. Los dibujos descritos son solo esquemáticos y no limitativos. En los dibujos, el tamaño de algunos de los elementos puede estar exagerado y no dibujado a escala para fines ilustrativos. Las dimensiones y las dimensiones relativas no corresponden a reducciones reales de la invención a la práctica.

15 Además, los términos primero, segundo y similares en la descripción y en las reivindicaciones se utilizan para distinguir entre elementos similares y no necesariamente para describir una secuencia, ya sea temporalmente, espacialmente, en clasificación o de cualquier otra manera. Debe entenderse que los términos así utilizados son intercambiables en circunstancias apropiadas y que los modos de realización de la invención descritos en el presente documento son capaces de funcionar en otras secuencias distintas a las descritas o ilustradas en el presente documento.

20 Además, los términos encima, debajo y similares en la descripción y las reivindicaciones se usan con fines descriptivos y no necesariamente para describir posiciones relativas. Debe entenderse que los términos así utilizados son intercambiables en circunstancias apropiadas y que los modos de realización de la invención descritos en el presente documento son capaces de funcionar en otras orientaciones que las descritas o ilustradas en el presente documento.

25 Debe observarse que el término «que comprende», usado en las reivindicaciones, no debe interpretarse como restringido a los medios enumerados a continuación; no excluye otros elementos o etapas. Por lo tanto, debe interpretarse como especificando la presencia de las características, unidades, etapas o componentes indicados, pero no excluye la presencia o adición de una o más de otras características, unidades, etapas o componentes, o grupos de los mismos. Por lo tanto, el alcance de la expresión «un dispositivo que comprende los medios A y B» no debe limitarse a dispositivos que consisten solamente en componentes A y B. Significa que, con respecto a la presente invención, los únicos componentes relevantes del dispositivo son A y B.

30 La referencia en toda esta memoria descriptiva a «un modo de realización» significa que una característica o estructura particular descrita en relación con el modo de realización está incluida en al menos un modo de realización de la presente invención. Por lo tanto, las apariciones de la frase «en un modo de realización» en varios lugares a lo largo de esta memoria descriptiva no se refieren todas necesariamente al mismo modo de realización, sino que pueden. Además, las características o estructuras particulares pueden combinarse de cualquier manera adecuada, como sería evidente para un experto en la técnica a partir de esta divulgación, en uno o más modos de realización.

35 De forma similar, debería apreciarse que en la descripción de modos de realización ejemplares de la invención, varias características de la invención se agrupan a veces juntas en un único modo de realización, figura o descripción de la misma con el propósito de racionalizar la divulgación y ayudar en la comprensión de uno o más más de los diversos aspectos inventivos. Sin embargo, este procedimiento de divulgación no debe interpretarse de modo que refleje una intención de que la invención reivindicada requiere más características que las que se enumeran expresamente en cada reivindicación. Más bien, como reflejan las siguientes reivindicaciones, los aspectos inventivos se encuentran en menos de todas las características de un único modo de realización divulgado anteriormente. Por lo tanto, las reivindicaciones que siguen a la descripción detallada se incorporan expresamente por el presente documento en esta descripción detallada, funcionando cada reivindicación por sí misma de forma independiente como un modo de realización separado de esta invención.

45 Además, aunque algunos modos de realización descritos en el presente documento incluyen algunas pero no otras características incluidas en otros modos de realización, las combinaciones de características de diferentes modos de realización están destinadas a formar modos de realización diferentes como se entenderían por los expertos en la técnica. Por ejemplo, en las siguientes reivindicaciones, cualquiera de los modos de realización reivindicados puede usarse en cualquier combinación.

50 En la descripción proporcionada en el presente documento, se exponen numerosos detalles específicos. Sin embargo, se entiende que los modos de realización de la invención pueden ensayarse sin estos detalles específicos. En otros casos, no se han mostrado en detalle procedimientos, estructuras y técnicas bien conocidos para no ocultar la comprensión de esta descripción.

55 Los modos de realización de la presente invención pueden usarse en procedimientos y sistemas para la caracterización óptica. Dicha caracterización óptica puede ser típicamente espectrofotometría UV-VIS. Cuando se

hace referencia a UV-VIS, se hace referencia a una región de longitud de onda que tiene una longitud de onda superior en la región de 300 nm a 1100 nm y una longitud de onda inferior en la región de 150 nm a 299 nm. La caracterización de muestras de microvolumen utilizando dispositivos microfluídicos puede comprender la detección de la presencia de ciertos componentes, la determinación de la concentración de ciertos componentes, la determinación de ciertas reacciones que se producen, etc. Dicha caracterización puede incluir, por ejemplo, aplicaciones en el campo de la biología, biotecnología, química, el campo clínico y/o el campo médico.

Cuando en modos de realización de la presente invención se hace referencia a muestras que comprenden al menos ADN y/o ARN, la referencia puede hacerse, por ejemplo, a muestras que comprenden ADN, ADN bicatenario y/o ARN. Dichas muestras típicamente están constituidas por nucleótidos, que pueden basarse en diferentes bases nitrogenadas que son adenina, timina, guanina, citosina y/o uracilo.

Cuando en los modos de realización de la presente invención se hace referencia a muestras que comprenden «soluciones tampón y/o sales» o «un contenido de soluciones tampón y/o sales», este último típicamente puede referirse a componentes de soluciones tampón y/o sales introducidos para extraer ADN y/o ARN. Las soluciones tampón y/o sales pueden definir un pH de la muestra en el intervalo de 5,5 a 8,5, de forma ventajosa en el intervalo de 7,0 a 8, aunque, de acuerdo con modos de realización de la presente invención, el pH de la muestra también puede variar fuera de este intervalo y, de acuerdo con modos de realización de la presente invención, pueden tenerse en cuenta los efectos del pH sobre los datos espectrales obtenidos para determinar una cuantificación de ADN y/o ARN. Los solutos tampón pueden ser, por ejemplo, electrolitos solubles o sales tampón. El soluto tampón puede comprender cualquiera o una combinación de cloruro sódico, cloruro de potasio, citrato sódico, Tris.HCl, fosfato potásico o fosfato sódico, aunque los modos de realización de la presente invención no están limitadas por ellos.

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para caracterizar una muestra que comprende al menos ADN y/o ARN. Aunque el procedimiento es especialmente adecuado para cuantificar ARN, no se limita a ello. De acuerdo con un modo de realización de la presente invención, el procedimiento comprende obtener una medición espectroscópica UV-VIS de la muestra que comprende al menos ADN y/o ARN. Esto último se puede hacer usando cualquier espectrómetro UV-VIS adecuado, que permita recoger datos del espectrómetro. Para ARN y ADN, la región espectral de interés incluye de forma ventajosa el intervalo de 230 nm a 340 nm, aunque los modos de realización de la presente invención no se limitan a ella. Además, de acuerdo con un modo de realización de la presente invención, el procedimiento comprende determinar ADN y/o ARN presentes en la muestra. En algunos modos de realización, se realiza la cuantificación de la presencia de ADN y/o ARN en la muestra. Durante dicha determinación, se tienen en cuenta los efectos de las soluciones tampón y/o sales en la medición espectroscópica UV-VIS, independientemente del contenido real de soluciones tampón y sales de la muestra, basándose en datos espectrales de referencia que incluyen información sobre los efectos de las soluciones tampón y/o sales. En otras palabras, independientemente del contenido real de soluciones tampón y/o sales de la muestra, se compensan las contribuciones significativas o sustancialmente el efecto total de deformación y/o desplazamiento causado por la presencia del contenido de soluciones tampón y/o sales, de manera que esto evita una cuantificación errónea. Dichos datos espectrales de referencia que incluyen información relativa a los efectos de las soluciones tampón y/o sales pueden en un ejemplo incorporarse en diferentes espectros de referencia de ADN y/o ARN para diferentes contenidos de soluciones tampón y/o sales utilizados para ajustar los datos espectrales obtenidos. De forma alternativa, también se puede usar un espectro que sea directamente representativo de los efectos de las soluciones tampón y/o sales.

A modo de ilustración, no estando limitados a la misma los modos de realización de la presente invención, se describirá además un ejemplo de un procedimiento de acuerdo con un modo de realización, con referencia a la figura 1, que ilustra algunas características estándar y opcionales. La figura 1 ilustra un procedimiento 100 ejemplar para caracterizar ADN y/o ARN en una muestra que comprende ADN y/o ARN. Más particularmente, el procedimiento es especialmente adecuado para cuantificar una cantidad de ADN y/o ARN presente en una muestra, y para proporcionar una cuantificación precisa de ADN y/o ARN poco sujeto o incluso independiente de la concentración de soluciones tampón o de la concentración de sal utilizada.

En una primera etapa 110, el procedimiento 100 para caracterizar ADN y/o ARN en una muestra que comprende ADN y/o ARN comprende obtener una medición espectroscópica UV-VIS de la muestra que comprende al menos ADN y/o ARN. La etapa típicamente puede comprender registrar un espectro, por ejemplo utilizando un espectrofotómetro, aunque la etapa también puede ser una etapa de recepción de datos de una medición del espectrofotómetro, grabados previamente, almacenados en una memoria o introducidos a través de un canal de entrada. Típicamente, dicho espectro comprenderá datos espectrales en al menos un intervalo de 230 nm a 340 nm, que es la región en la que la contribución de ARN y/o ADN es típicamente grande, pero dependiendo de la aplicación, también pueden usarse datos espectrales de otro intervalo.

En una segunda etapa 120, el procedimiento 100 comprende determinar una cuantificación de ADN y/o ARN del ADN y/o ARN presentes en la muestra. Dicha cuantificación puede incluir una cuantificación completa o puede comprender determinar una relación de ADN con respecto a ARN, etc. Como se ha indicado anteriormente, de acuerdo con modos de realización de la presente invención, dicha cuantificación tiene en cuenta un efecto de las soluciones tampón y/o sales en la medición espectroscópica UV-VIS, independientemente del contenido real de soluciones tampón y sales de la muestra, basándose en datos espectrales de referencia que incluyen información sobre los efectos de las soluciones tampón y/o sales. El procedimiento puede, por lo tanto, en algunas modos de realización, comprender la

etapa de obtener datos espectrales de referencia directamente representativos de efectos de las soluciones tampón y/o sales. Esto último se puede realizar de una pluralidad de maneras. Cualquier información previamente determinada que se haya almacenado puede recibirse desde una memoria. De forma alternativa o adicional a esto, en un ejemplo, la obtención de datos espectrales de referencia que incluyen información espectral de efectos de las soluciones

5 tampón y/o sales puede obtenerse de acuerdo con un algoritmo predeterminado. A modo de ilustración, no estando limitada a la misma la presente invención, en la figura 2 se muestra un ejemplo de obtención de la información de acuerdo con un algoritmo Predeterminado.

De acuerdo con el algoritmo predeterminado, los datos espectrales de referencia que incluyen información espectral para efectos de las soluciones tampón y/o sales pueden determinarse, por ejemplo, de la siguiente manera: El

10 algoritmo particular puede comprender las siguientes etapas:

En primer lugar, se realiza la obtención (210) de información previa para esas una o más muestras relativa a sus constituyentes. En un ejemplo, se puede usar una matriz de dilución y las diferentes muestras pueden ser muestras que comprenden el mismo contenido de ADN y/o ARN para diferentes diluciones, lo que se traduce en diferentes concentraciones relativas con respecto a soluciones tampón y sales. Dicha información previa para esas una o más

15 muestras relativa a sus constituyentes puede comprender en algunos modos de realización uno o más espectros de referencia, por ejemplo, para ADN y/o ARN o sus componentes. Dicha información previa de forma alternativa o además de la misma también puede comprender información de la composición esperada, tal como, por ejemplo, concentraciones esperadas, relaciones esperadas entre diferentes constituyentes, etc. En algunos modos de realización también se puede usar una combinación de dicha información previa. El algoritmo también comprende

20 obtener (220) datos del espectrofotómetro UV-VIS para esas una o más muestras. Dichos datos del espectrofotómetro UV-VIS pueden ser típicamente un espectro del espectrofotómetro, aunque también se puede usar información en una o más longitudes de onda individuales o intervalos de longitudes de onda.

El procedimiento de acuerdo con la presente invención comprende también definir (230) diversos componentes coincidentes que contribuyen a los datos del espectrofotómetro UV-VIS, comprendiendo el número de componentes coincidentes uno o más componentes asignados a constituyentes de ARN y/o ADN de esas una o más muestras y comprendiendo el número de componentes coincidentes al menos un componente que no puede asignarse a constituyentes conocidos de una o más muestras y que se considera representativo de efectos de los efectos de las

25 soluciones tampón y/o sales sobre las contribuciones espectrales de ARN y/o ADN.

El procedimiento comprende además usar (240) la información previa de una o más muestras relativa a sus constituyentes y usar los datos del espectrofotómetro UV-VIS, estimar (250) la composición de los constituyentes y las contribuciones de los componentes a los datos del espectrofotómetro UV-VIS para el número de componentes de esas una o más muestras minimizando un residuo entre los datos del espectrofotómetro UV-VIS y un ajuste basado en dicha composición de constituyentes y dichas contribuciones de los componentes, obteniéndose de este modo información relativa a esos uno o más componentes asignados a constituyentes conocidos de esas una o más

35 muestras y relativa al al menos un componente que no puede asignarse a constituyentes conocidos de esa una o más muestras y que se considera representativo de efectos de los efectos de las soluciones tampón y/o sales sobre las contribuciones espectrales de ARN y/o ADN (es decir, obtención de los datos espectrales de referencia). De forma alternativa a la obtención de un espectro de referencia directamente representativo de efectos de las soluciones tampón y/o sales, la cuantificación puede tener en cuenta un efecto de las soluciones tampón y/o sales sobre la medición espectroscópica UV-VIS independientemente del contenido real de solución tampón y sal de la muestra, mediante el uso para el ajuste de las contribuciones de ADN y/o ARN, diferentes espectros de referencia de ADN y/o

40 ARN para diferentes contenidos de solución tampón y/o sal utilizados para ajustar los datos espectrales obtenidos. Los espectros de referencia pueden obtenerse previamente, calibrarse durante el uso, almacenarse en una memoria, etc.

El procedimiento también puede comprender repetir la etapa de estimación y la etapa de ajuste, por ejemplo, para minimizar adicionalmente el residuo total aplicando de forma repetitiva estas etapas. Dicho proceso de repetición puede realizarse hasta que el residuo restante entre los datos del espectrofotómetro UV-VIS y el ajuste basado en la composición de los constituyentes sea menor que un valor predeterminado o hasta que se alcance un número máximo de etapas de repetición. El valor predeterminado al que se hace referencia puede basarse en reglas predeterminadas, basadas en una red neural, basadas en algoritmos predeterminados, basadas en información relativa a esas una o más muestras, etc. En algunos modos de realización, la minimización del residuo solo puede realizarse para aquellas

50 muestras que tienen el menor residuo, lo que permite obtener resultados más precisos y/o una convergencia más rápida.

El procedimiento en un modo de realización puede permitir proporcionar como información de salida un espectro de referencia para un efecto de las soluciones tampón y/o sales. Este último puede usarse para establecer una biblioteca de diferentes espectros de referencia compatibles con diferentes constituyentes o efectos de los mismos.

55

A modo de ilustración, el algoritmo que comprende una serie de etapas particulares se describirá utilizando un formalismo de matriz matemático particular, aunque los modos de realización de la presente invención no se limitan al mismo, también se puede usar otro formalismo matemático.

Para ilustrar el algoritmo, se proporcionan una serie de definiciones en primer lugar:

A: representa datos de medición (expresados en absorbancias, OD 10 mm) de una pluralidad de muestras que tienen una concentración de ADN y/o ARN conocida, medida típicamente en un intervalo de longitud de onda que comprende de 250 nm a 340 nm, por ejemplo en el intervalo entre 230 nm y 400 nm.

5 Un conjunto de muestras puede obtenerse, por ejemplo, a partir de una matriz de dilución, mediante la cual una muestra que comprende ADN y/o ARN se diluye usando diferentes disolventes. Esto último da lugar a la presencia de diferentes concentraciones del contenido de solución tampón y sal.

10 **Q:** representa las presencias relativas de los diferentes componentes conocidos que son ADN y ARN o constituyentes de los mismos y al menos un constituyente desconocido, debiéndose el componente correspondiente con deformación y/o desplazamiento del espectro de ADN y/o ARN al contenido de solución tampón y sal.

R: representa los espectros de referencia, mediante el cual una pluralidad de espectros se consideran conocidos, que son los espectros del ADN y/o ARN o constituyentes de los mismos, mientras que también está presente al menos un componente espectral desconocido, correspondiéndose el componente espectral con la deformación y/o desplazamiento del espectro del ADN y/o ARN debidos al contenido de solución tampón y de sal.

15 La siguiente expresión es, por lo tanto, válida entre los componentes, la matriz de coeficientes y la matriz de medición:

$$R Q = A \tag{1}$$

Trasponiendo toda la ecuación [1] se obtiene la siguiente relación:

$$Q^T \cdot R^T = A^T \tag{2}$$

y los espectros de referencia se pueden encontrar mediante

20
$$R^T = pinv(Q^T) \cdot A^T \tag{3}$$

25 Para la matriz de dilución de muestras, se conocen los coeficientes de una serie de subcomponentes, mientras que el coeficiente del componente desconocido no se conoce todavía. De forma similar, los espectros de referencia de los componentes conocidos se consideran conocidos, mientras que no ocurre así para el espectro de referencia del componente representativo de los efectos de las soluciones tampón y sales. Con el fin de extraer el espectro de referencia del componente representativo de los efectos de las soluciones tampón y sales, en el presente ejemplo se realiza el siguiente algoritmo recursivo:

En primer lugar, se hace una estimación para las contribuciones R de los componentes, que en el presente ejemplo se realiza usando las siguientes etapas:

30 - Utilizando el conocimiento de la matriz de dilución y los resultados de las mediciones, se completa la matriz A y se completa la matriz Q que expresa los coeficientes de los componentes. Para los componentes conocidos esto puede basarse en conocimientos previos, para el componente desconocido representativo del efecto del contenido de las soluciones tampón y sales, esto puede ser haciendo uso de un valor de inicialización.

- Usando Q y A, se puede determinar la matriz de referencia R, teniendo en cuenta que parte de R puede ser ya conocida. Dicha determinación puede basarse en la ecuación [3].

35 Después de estimarse la contribución del componente desconocido en R, se recalculan los coeficientes (información de composición) a partir de la primera estimación de la contribución de los componentes en R, hecho en el presente realizando las siguientes etapas: Calcular el espectro previsto (S) y determinar las concentraciones en función de los componentes presentes, expresados por la ecuación [4]

$$Q^T = pinv(R^T) \cdot A^T \tag{4}$$

40 A continuación, se determina una nueva estimación de la contribución R de los componentes, en el presente ejemplo usando las concentraciones determinadas y recalculando los nuevos espectros de referencia.

La determinación de la estimación de la información de la composición y la contribución de los componentes puede hacerse por repetición hasta que Q y R converjan (lo que parece ser el caso).

45 La determinación anterior proporciona un ejemplo para determinar espectros de referencia, pero los modos de realización de la presente invención no se limitan a la misma y pueden aplicarse también datos de referencia generados de otra manera.

50 En un procedimiento alternativo, al menos parte de los datos espectrales de referencia que incluyen información para efectos de las soluciones tampón y/o sales son datos espectrales de referencia de dos muestras que tienen concentraciones diferentes, por ejemplo, extremas, de solución tampón y/o sal. Esto último puede usarse, por ejemplo, como se indica a continuación. El algoritmo puede comprender obtener datos del espectrofotómetro UV-VIS de al

menos dos muestras que comprenden contenido de ADN y/o ARN y que tienen contenido distinto de soluciones tampón y/o sales, y usar dichos datos para ajustar los datos del espectrofotómetro UV-VIS para derivar la contribución real de ADN y/o ARN, sustancialmente independiente del contenido de soluciones tampón y/o sales.

5 En aún otra alternativa, se puede usar un espectro de diferencia determinado a partir de datos espectrales de al menos dos muestras que comprenden contenido de ADN y/o ARN y que tienen contenido distinto de soluciones tampón y/o sales.

En aún otro procedimiento del procedimiento para caracterizar ADN y/o ARN, el procedimiento puede comprender dar salida 130 a un resultado de cuantificación.

10 Los modos de realización de acuerdo con los procedimientos de la presente invención se pueden implementar como un programa informático además de como hardware.

En otro aspecto, la presente invención también se refiere a un sistema para caracterizar una muestra que comprende al menos ADN y/o ARN. El sistema comprende un medio de entrada para obtener una medición espectroscópica UV-VIS de la muestra que comprende al menos ADN y/o ARN. Este último puede ser un puerto de entrada para recibir información previa y datos del espectrofotómetro. De forma alternativa, los medios de entrada pueden comprender también un sistema de medición para registrar datos del espectrofotómetro UV-VIS, tales como por ejemplo un espectrofotómetro. El sistema comprende además un procesador programado para determinar una cuantificación de ADN y/o ARN presente en la muestra basándose en la medición espectroscópica UV-VIS obtenida, estando adaptado el procesador para determinar una cuantificación de ADN y/o ARN teniendo en cuenta efectos de una solución tampón y/o sal en la medición espectroscópica UV-VIS independientemente del contenido real de solución tampón y sal de la muestra, basándose en datos espectrales de referencia que incluyen información espectral de los efectos de las soluciones tampón y/o sales. Dichos medios de procesamiento pueden ser, por ejemplo, una CPU, aunque los modos de realización de la presente invención no se limitan a los mismos. Además, el sistema puede estar equipado con un medio de salida para generar información determinada usando los medios de procesamiento, tales como, por ejemplo, una memoria, una pantalla, una impresora o un plóter. A modo de ilustración, en la figura 3 se muestra un sistema para caracterizar una muestra 300 que comprende un medio 310 de entrada, un procesador 320 y un medio 330 de salida.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para actualizar un sistema espectrofotométrico. El procedimiento de mejora típicamente puede comprender almacenar datos espectrales de referencia que incluyen información espectral para efectos de las soluciones tampón y/o sales, o derivar dichos datos usando el sistema de espectrofotómetro. El procedimiento de actualización además puede comprender proporcionar un protocolo de medición que implementa un procedimiento para caracterizar ADN y/o ARN de acuerdo con un modo de realización de un procedimiento como el descrito anteriormente. Dicho procedimiento de actualización puede aplicarse a sistemas de espectrofotómetro existentes, por lo que, mediante la implementación de un programa informático, el sistema se puede alterar para tener los beneficios de sistemas o procedimientos como los descritos anteriormente.

35 En aún otro aspecto, los modos de realización de la presente invención también se refieren a procedimientos implementados por ordenador para realizar al menos parte de los procedimientos para caracterizar ADN y/o ARN en una muestra que comprende al menos ADN y/o ARN. Los procedimientos pueden implementarse en un sistema informático. Pueden implementarse como programa informático, como hardware o como una combinación de los mismos. Dichos procedimientos se pueden adaptar para realizarlos en un ordenador de una manera automatizada y/o automática. En caso de implementación o implementación parcial como programa informático, dicho programa informático puede adaptarse para ejecutarse en un ordenador o plataforma informática adecuados, basados en uno o más procesadores. El programa informático puede adaptarse para su uso con cualquier sistema operativo adecuado tal como, por ejemplo, un sistema operativo Windows o un sistema operativo Linux. Los medios de cálculo pueden comprender un medio de procesamiento o procesador para procesar datos. De acuerdo con algunos modos de realización, los medios de procesamiento o procesador pueden adaptarse para determinar ADN y/o ARN basándose en el análisis espectral de acuerdo con cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente. Además de un procesador, el sistema informático puede comprender además un sistema de memoria que incluye por ejemplo ROM o RAM, un sistema de salida tal como por ejemplo una unidad de CD-ROM o DVD o medios para dar salida a información a través de una red. También se pueden incluir componentes convencionales de ordenador tales como, por ejemplo, un teclado, pantalla, dispositivo puntero, puertos de entrada y salida, etc. El transporte de datos puede proporcionarse basándose en buses de datos. La memoria del sistema informático puede comprender un conjunto de instrucciones que, cuando se implementan en el sistema informático, dan lugar a la implementación de parte o de todas las etapas estándar de los procedimientos expuestos anteriormente y opcionalmente de las etapas opcionales expuestas anteriormente. Los resultados obtenidos pueden generarse a través de un medio de salida, tales como, por ejemplo, un plóter, una impresora, una pantalla o como datos de salida en formato electrónico.

Un aspecto adicional de los modos de realización de la presente invención abarca productos de programas informáticos incorporados en un medio de soporte que llevan un código legible por máquina para su ejecución en un dispositivo informático, los productos de programa informático como tales, así como el soporte de datos tal como DVD o CD-ROM o dispositivo de memoria. Aspectos de modos de realización comprenden además la transmisión de un

producto de programa informático a través de una red, tal como por ejemplo una red local o una red de área amplia, así como las señales de transmisión correspondientes con la misma.

5 A modo de ilustración, no limitándose a la misma los modos de realización de la presente invención, se analizan a continuación varios ejemplos del efecto de los contenidos de soluciones tampón y sales. El último ilustra cómo se pueden utilizar de forma ventajosa los modos de realización de la presente invención.

10 La figura 4 ilustra la relación de la absorción a 260 nm y a 280 nm para diferentes concentraciones de ARN y para el ADN, ilustrando que, basándose en esta relación, la distinción entre ARN y ADN no puede realizarse de forma inequívoca. Mediante la dilución en agua, se mide típicamente un desplazamiento de los espectros hacia longitudes de onda más largas, como puede verse en la figura 5. En consecuencia, si no se tiene en cuenta, el efecto de la dilución y diferentes soluciones tampón y/o concentraciones de sal en los espectros puede dar lugar a una cuantificación errónea de ADN y/o ARN. Utilizar una desconvolución en la que además se tienen en cuenta los efectos de las soluciones tampón y/o sales usando un procedimiento como el descrito anteriormente da como resultado la posibilidad de determinar con precisión el contenido de ARN y ADN, sin verse perturbado por efectos de desplazamiento y/o deformación debidos a soluciones tampón y/o sales. Otros resultados experimentales también
15 confirman que se puede realizar una determinación precisa de ARN y ADN, especialmente de ARN. Los resultados se obtuvieron para muestras mixtas de ARN y ADN. Se descubrió que, usando un procedimiento de acuerdo con un modo de realización de la presente invención, se podía lograr una determinación precisa de la relación de ARN con respecto a ADN.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para caracterizar una muestra que comprende al menos ADN y/o ARN, comprendiendo el procedimiento:

- obtener una medición espectroscópica UV-VIS de la muestra que comprende al menos ADN y/o ARN, y

5 - cuantificar una cantidad de ADN y/o ARN o determinar una relación de ADN con respecto a ARN presente en la muestra, teniendo en cuenta un efecto de las soluciones tampón y/o sales en la medición espectroscópica UV-VIS independientemente del contenido real de soluciones tampón y sales de la muestra, basándose en datos espectrales de referencia que incluyen información espectral sobre efectos de las soluciones tampón y/o sales;

caracterizado porque

10 dichos datos espectrales de referencia que incluyen información espectral de efectos de las soluciones tampón y/o sales son o se basan en datos de referencia representativos de datos del espectrofotómetro UV-VIS para al menos dos muestras que comprendan un contenido de ADN y/o ARN y que tengan un contenido distinto de solución tampón y/o sal.

15 2. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el procedimiento comprende además la recuperación de dichos datos espectrales de referencia que incluyen información espectral de las contribuciones de las soluciones tampón y/o sales desde una memoria.

20 3. Un procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la determinación de un ADN y/o ARN presentes comprende el uso de datos de referencia representativos de los datos del espectrofotómetro UV-VIS para al menos dos muestras que comprendan un contenido de ADN y/o ARN y que tengan un contenido distinto de solución tampón y/o sal.

4. Un procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que al menos parte de los datos espectrales de referencia que incluyen información espectral sobre efectos de las soluciones tampón y/o sales se determinan a partir de un procedimiento que comprende:

25 - obtener información previa relativa al contenido de ADN y/o ARN y al contenido de soluciones tampón y/o sales de una pluralidad de muestras que tienen diferente contenido de soluciones tampón y/o sales,

- obtener datos del espectrofotómetro UV-VIS para dichas muestras,

30 - definir diversos componentes coincidentes que contribuyen a los datos del espectrofotómetro UV-VIS, comprendiendo el número de componentes coincidentes uno o más componentes asignados a constituyentes de ARN y/o ADN de esas una o más muestras y comprendiendo el número de componentes coincidentes al menos un componente que no puede asignarse a constituyentes conocidos de una o más muestras y que se considera representativo de efectos de los efectos de las soluciones tampón y/o sales sobre las contribuciones espectrales de ARN y/o ADN.

35 - usar la información previa de una o más muestras relativa a sus constituyentes y usar los datos del espectrofotómetro UV-VIS, estimar la composición de los constituyentes y las contribuciones de los componentes a los datos del espectrofotómetro UV-VIS para el número de componentes de esas una o más muestras minimizando un residuo entre los datos del espectrofotómetro UV-VIS y un ajuste basado en dicha composición de constituyentes y dichas contribuciones de los componentes, obteniéndose de este modo información relativa a esos uno o más componentes asignados a constituyentes conocidos de esas una o más muestras y relativa al menos un componente que no puede asignarse a constituyentes conocidos de esa una o más muestras y que se considera representativo de efectos de los efectos de las soluciones tampón y/o sales sobre las contribuciones espectrales de ARN y/o ADN.

40 5. Un procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que al menos parte de los datos espectrales de referencia que incluyen información espectral sobre efectos de las soluciones tampón y/o sales se determinan a partir de un procedimiento que comprende

45 - obtener datos del espectrofotómetro UV-VIS para al menos dos muestras que comprendan contenido de ADN y/o ARN y que tengan contenido distinto de solución tampón y/o sal,

- determinar un espectro de diferencia basado en los datos del espectrofotómetro UV-VIS para las al menos dos muestras, y

- determinar al menos parte de los datos espectrales de referencia basados en dicho espectro de diferencia.

50 6. Un procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que los datos espectrales de referencia que incluyen información espectral de efectos de las soluciones tampón y/o sales son una curva no lineal.

7. Un procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la muestra comprende ARN y en la que la cuantificación comprende cuantificar una cantidad de ARN en la muestra.

8. Un sistema para caracterizar una muestra que comprende al menos ADN y/o ARN, comprendiendo el sistema

5 - un medio de entrada para obtener una medición espectroscópica UV-VIS de la muestra que comprende al menos ADN y/o ARN, y

10 - un procesador adaptado para cuantificar una cantidad de ADN y/o ARN o determinar una relación de ADN con respecto a ARN presente en la muestra basada en la medición espectroscópica UV-VIS obtenida, teniendo en cuenta un efecto de las soluciones tampón y/o sales en la medición espectroscópica UV-VIS independientemente del contenido real de soluciones tampón y sales de la muestra basándose en datos espectrales de referencia que incluyen información espectral sobre efectos de las soluciones tampón y/o sales,

caracterizado porque

15 dichos datos espectrales de referencia que incluyen información espectral de efectos de las soluciones tampón y/o sales son o se basan en datos de referencia representativos de datos del espectrofotómetro UV-VIS para al menos dos muestras que comprendan un contenido de ADN y/o ARN y que tengan un contenido distinto de solución tampón y/o sal.

9. Un sistema de acuerdo con la reivindicación 8, estando el sistema adaptado para realizar un procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

10. Uso de un procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para cuantificar una cantidad de ARN en una muestra.

20 11. Uso de un procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para determinar una fracción de ARN en una mezcla de ARN/ADN en una muestra.

12. Un producto de programa informático para, si se implementa en una unidad de procesamiento, realizar un procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

13. Un procedimiento para actualizar un espectrofotómetro, comprendiendo el procedimiento

25 - almacenar datos espectrales de referencia que incluyen información espectral de los efectos de las soluciones tampón y/o sales en una memoria en un procesador del espectrofotómetro, e

- instalar un producto de programa informático, de acuerdo con la reivindicación 12 en el sistema de espectrofotómetro.

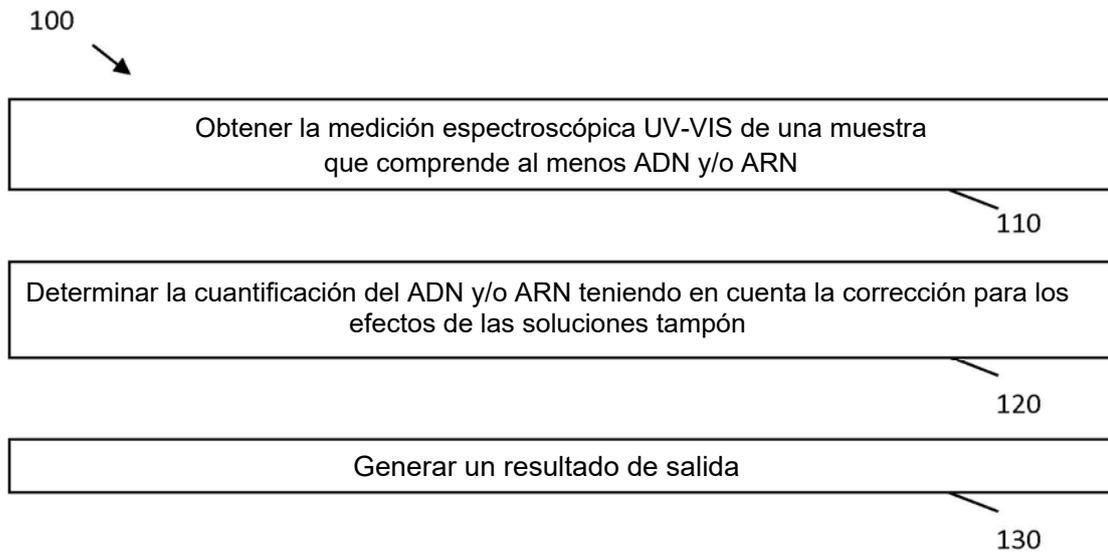


FIG. 1

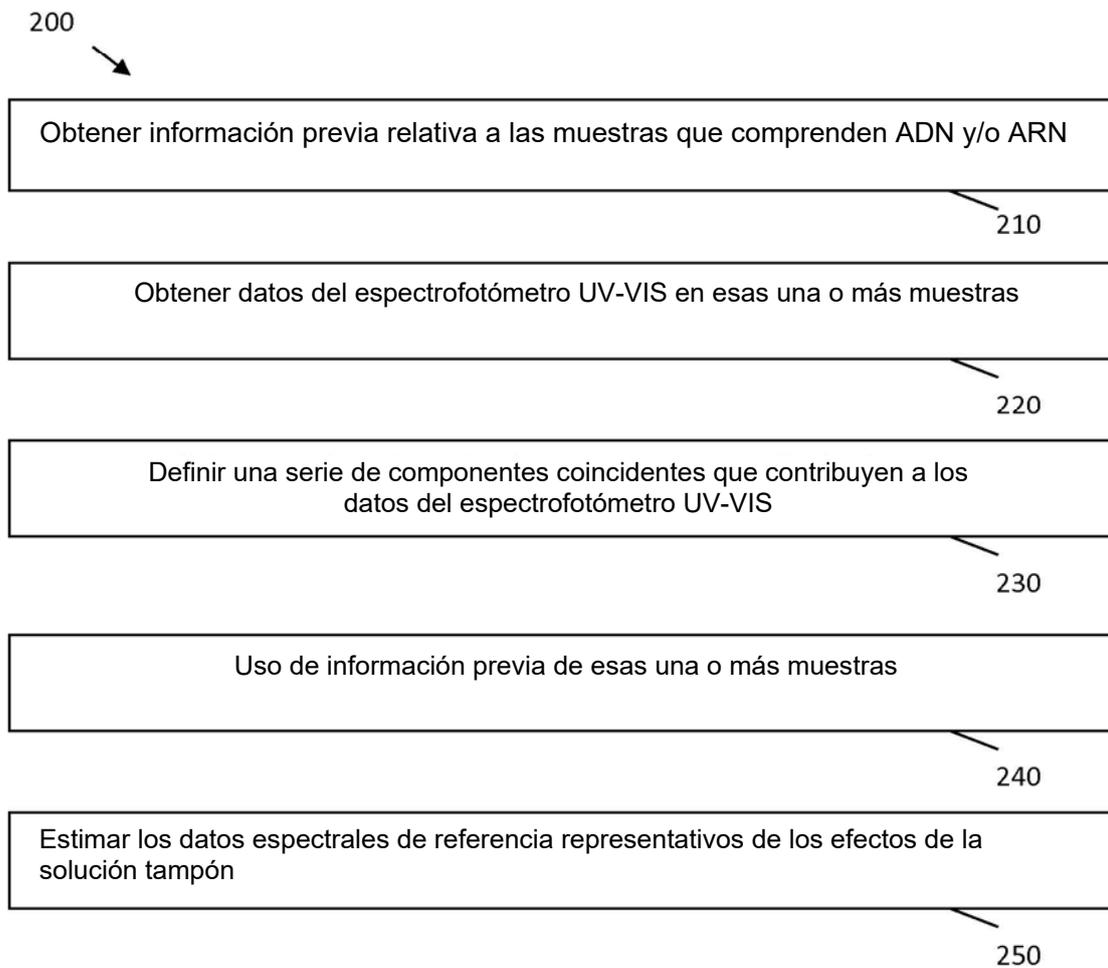


FIG.2

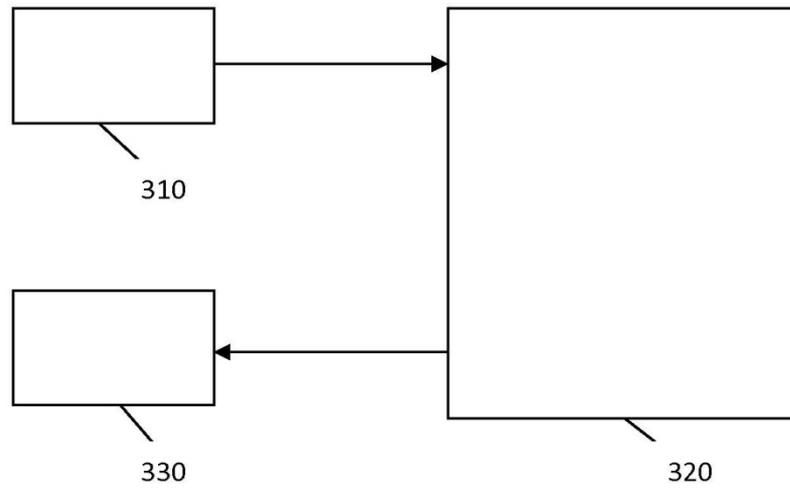


FIG. 3

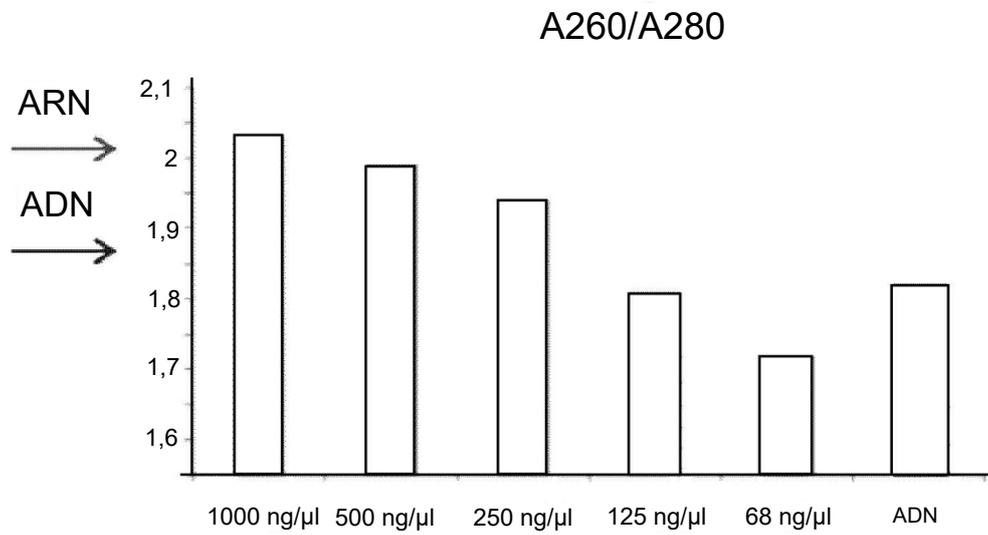


FIG. 4

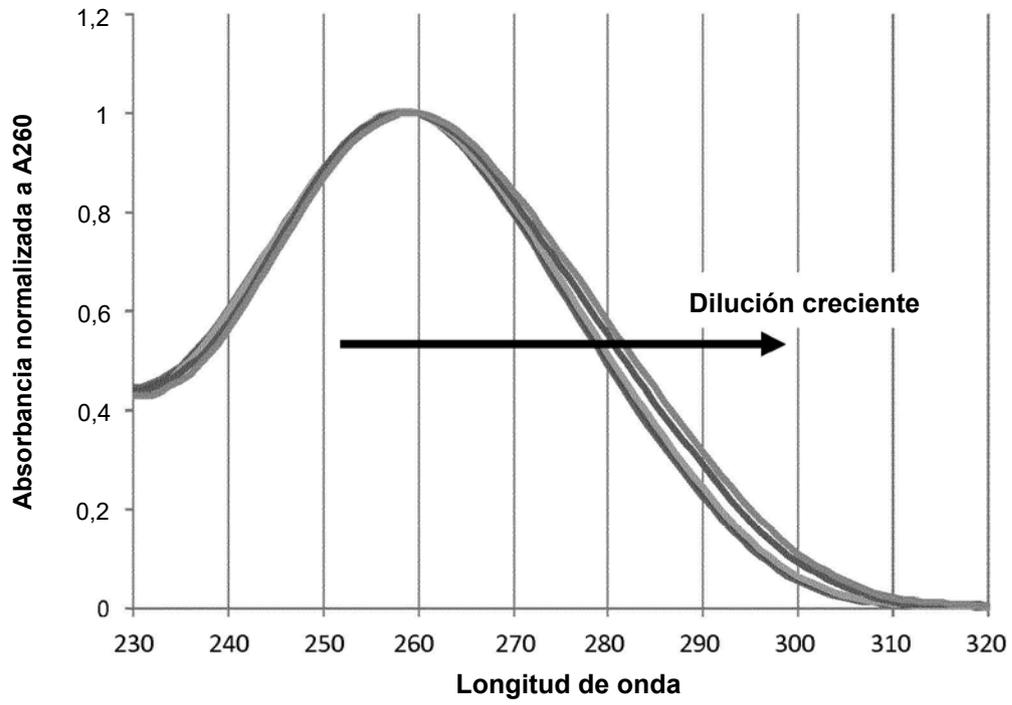


FIG. 5

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

5 La lista de referencias citadas por el solicitante es, únicamente, para conveniencia del lector. No forma parte del documento de patente europea. Si bien se ha tenido gran cuidado al compilar las referencias, no pueden excluirse errores u omisiones y la OEP declina toda responsabilidad a este respecto.

Literatura no patente citada en la descripción

- **MONTOYE T. et al.** *Specific dsDNA quantification - UV/VIS-based cDrop method vs. Picogreen fluorescent assay* [0007]