

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 830 526**

51 Int. Cl.:

G01N 27/447 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.07.2009 PCT/JP2009/062782**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.01.2010 WO10008008**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.07.2009 E 09797933 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.09.2020 EP 2315014**

54 Título: **Aparato de electroforesis y método de electroforesis**

30 Prioridad:

15.07.2008 JP 2008184104

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

03.06.2021

73 Titular/es:

TOPPAN PRINTING CO., LTD. (50.0%)

5-1, Taito 1-chome Taito-ku

Tokyo 110-8560, JP y

MERCK LTD. (50.0%)

72 Inventor/es:

SAKAIRI, KOJI;

AKUTSU, SATONARI;

MARUO, YUJI;

MATSUNAGA, TAKATERU;

UNUMA, YUTAKA;

HIRATSUKA, ATSUNORI;

KINOSHITA, HIDEKI;

SAKAGUCHI, NAO y

YOKOYAMA, KENJI

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 830 526 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

Aparato de electroforesis y método de electroforesis

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un aparato de separación de muestras biológicas automatizado, a un aparato que constituye el aparato de separación de muestras biológicas automatizado y al uso del mismo. Más específicamente, la presente invención se refiere a un aparato de electroforesis automatizado y a un método de electroforesis automatizado.

Antecedentes de la técnica

10 Después del logro de los proyectos del genoma humano, se han llevado a cabo investigaciones intensas sobre el proteoma. El término "proteoma" abarca cualquier proteína que se produzca por medio de traducción de ciertas células, órganos, etc. Un ejemplo de las investigaciones sobre el proteoma es la obtención del perfil de una proteína.

15 Una de las técnicas más comunes para la obtención del perfil de una proteína es la electroforesis bidimensional de la proteína. Las proteínas tienen cargas eléctricas y pesos moleculares diferentes únicos para ellas mismas. A partir del proteoma, que es una mezcla de muchas clases de proteínas, las proteínas pueden separarse basándose en las cargas eléctricas o pesos moleculares. Sin embargo, es posible realizar la separación de proteínas a partir del proteoma con mayor resolución para más clases de las proteínas separando las proteínas del proteoma basándose en cargas eléctricas y pesos moleculares en combinación.

20 La electroforesis bidimensional incluye dos etapas de electroforesis: electroforesis de isoelectroenfoque para separar proteínas basándose en sus diferencias de carga eléctrica; y electroforesis en gel plano (especialmente, SDS-PAGE) para separar las proteínas basándose en sus diferencias de peso molecular. Además, la electroforesis bidimensional puede llevarse a cabo con una muestra preparada con o sin un agente desnaturizante. Como tal, la electroforesis bidimensional es una excelente técnica capaz de separar varios cientos de clases de proteínas de una vez.

25 En la electroforesis bidimensional, se somete una muestra a la electroforesis de isoelectroenfoque en un gel en una primera dimensión. Entonces, el gel en una primera dimensión se transfiere para aplicarse a un gel en una segunda dimensión en el que la muestra se somete a la separación basada en el peso molecular. Generalmente, el gel en una primera dimensión para la electroforesis de isoelectroenfoque es muy delgado en comparación con su anchura y longitud. Por tanto, es difícil reconocer qué lado es el lado frontal o el lado posterior del gel, y de qué modo el gel tiene un gradiente de pH. Además, el gel puede deformarse o torcerse fácilmente, y tiene por tanto una escasa estabilidad de forma. Esto sería una causa de escasa reproducibilidad de los resultados de la electroforesis. Además, la manipulación del gel en una primera dimensión no es fácil, lo que supone un impedimento para un esfuerzo de mejorar la transferencia del gel en una primera dimensión al gel en una segunda dimensión en cuando a precisión de posicionamiento. Además, en el caso en el que la separación en la segunda dimensión se lleva a cabo con SDS-PAGE, se requiere realizar el tratamiento de equilibrado (tratamiento con SDS y reducción) (tratamiento químico) en el gel en una primera dimensión después de la electroforesis en la segunda dimensión, de modo que las proteínas en el gel en una primera dimensión serán capaces de migrar a través del gel en una segunda dimensión. Debido a la necesidad de tal tratamiento en el gel en una primera dimensión, la electroforesis bidimensional produce resultados diferentes dependiendo de la aptitud del operario.

30 Tal como se describió anteriormente, la electroforesis bidimensional es una excelente técnica, aunque requiere que el operario de la misma tenga mucha experiencia en la realización de la misma. La dependencia de la aptitud del operario dificulta que la electroforesis bidimensional obtenga datos cuantitativos con buena reproducibilidad.

40 Con el fin de superar este problema, se han desarrollado técnicas para automatizar la electroforesis bidimensional (véanse el documento de patente 1 y el documento no de patente 1).

Lista de menciones

Documentos de patente

Documento de patente 1

Publicación de solicitud de patente japonesa, Tokukai, n.º 2007-64848 A (fecha de publicación: 15 de marzo de 2007)

45 Documento de patente 2

JP 63-138250 (fecha de publicación: 10 de junio de 1988)

Documentos no de patente

Documento no de patente 1

50 Hiratsuka *et al.*, Fully Automated Two-Dimensional Electrophoresis System for High-Throughput Protein Analysis, Anal. Chem., 79 (15), 5730 -5739, 2007

Sumario de la invención

Problema técnico

5 Tal como se describió anteriormente, ha habido una gran demanda de una mayor precisión de deposición en la electroforesis para analizar una muestra biológica. En respuesta a esto, existe la necesidad de una técnica de electroforesis que pueda lograr una mayor precisión que las técnicas del documento de patente 1 y el documento no de patente 1.

La presente invención se logra en vista de los problemas mencionados anteriormente, y un objeto principal de la presente invención es proporcionar una técnica de electroforesis con mayor exactitud de las técnicas convencionales.

Solución al problema

10 Según la presente invención, se proporciona un aparato de electroforesis según la reivindicación independiente 1, que comprende: una sección de separación de muestras para contener un medio de separación de muestras para separar una muestra en una dirección de separación, conteniendo la sección de separación de muestras el medio de separación de muestras de tal manera que el medio de separación de muestras tiene una porción expuesta en un extremo de una superficie del medio de separación de muestras, estando la superficie en paralelo con la dirección de separación; medios
15 de conexión del medio para conectar un medio que contiene muestra con el medio de separación de muestras en una región de conexión sobre la porción expuesta, conteniendo el medio que contiene muestra una muestra, y satisfaciendo la región de conexión la siguiente ecuación (1):

$$Y \geq 0,4 \times X \cdots (1),$$

20 donde $X > 0$ y X es una distancia en la dirección de separación desde un extremo interior de la porción expuesta expuesta sobre la superficie superior del medio de separación de muestras, hasta un extremo interior del medio que contiene muestra, e Y es una distancia en una dirección perpendicular a la dirección de separación desde el extremo interior de la porción expuesta (151) expuesta sobre la superficie superior del medio de separación de muestras (150) hasta la región de conexión; un primer depósito de tampón que contiene al menos parte de la porción expuesta; y un segundo depósito de tampón que está ubicado de tal manera que la sección de separación de muestras estará entre el segundo depósito
25 de tampón y la porción expuesta, teniendo la sección de separación de muestras una abertura de comunicación para la comunicación entre el medio de separación de muestras y el segundo depósito de tampón.

Con esta disposición, el medio que contiene muestra que contiene la muestra puede estar conectado, en una posición apropiada, con el medio de separación de muestras para separar la muestra. Por tanto, es posible mejorar la exactitud de las manchas obtenidas como resultado de la electroforesis, en comparación con las técnicas convencionales.

30 Con esta disposición, en la que se proporcionan los depósitos de tampón, que están conectados respectivamente con ambos extremos del medio de separación de muestras, es posible realizar fácilmente la electroforesis.

El aparato de electroforesis según la presente invención puede disponerse preferiblemente de manera que el medio de separación de muestras tiene una sección de soporte cuya parte superior alcanza una altura igual a o mayor que el extremo interior de la porción expuesta, y la región de conexión está sobre la sección de soporte.

35 Con esta disposición, los medios de conexión del medio conectan el medio que contiene muestra con el medio de separación de muestras de tal modo que la electroforesis desplazará la muestra lejos de donde está ubicada la sección de soporte. Por tanto, la presencia de la sección de soporte, sorprendentemente, mejora la electroforesis. Obsérvese que, por ejemplo, en el caso en el que la porción expuesta tiene una parte superior plana, la porción expuesta del medio de separación de muestras se deforma mediante el medio que contiene muestra empujado contra una porción de lado no terminal de la porción expuesta, de modo que una porción de lado terminal de la porción expuesta sirve como sección de soporte (véase la figura 3(b)).

El aparato de electroforesis según la presente invención puede estar dispuesto preferiblemente de manera que la sección de separación de muestras tiene dos placas que son paralelas entre sí, para contener el medio de separación de muestras entre medias.

45 Con esta disposición, el medio de separación de muestras tiene una forma similar a un tablero definido por las superficies planas paralelas entre sí. Como resultado, la electroforesis puede realizar una separación de muestras más apropiadas.

El aparato de electroforesis según la presente invención puede estar dispuesto de manera que el medio que contiene muestra y el medio de separación de muestras son un gel o geles que contiene(n) un agente gelificante seleccionado del grupo que consiste en amidas poliacrílicas, agarosa, agar y almidón.

50 Con esta disposición, el uso de un gel o geles de este tipo conduce a una separación de muestras más apropiada.

El aparato de electroforesis según la presente invención puede estar dispuesto de manera que el medio que contiene muestra tiene una mayor viscoelasticidad que el medio de separación de muestras. En otras palabras, es preferible que el medio de separación de muestras y el medio que contiene muestra estén configurados respectivamente para tener

resistencias estructurales tales que el medio que contiene muestra no se deformará sino que el medio de separación de muestras se deformará cuando el medio que contiene muestra se conecta con el medio de separación de muestras.

5 Con esta disposición, el medio de separación de muestras se deformará sin deformar el medio que contiene muestra cuando el medio que contiene muestra se conecta con el medio de separación de muestras. Por tanto, se hace posible empujar el medio que contiene muestra dentro del medio de separación de muestras apropiadamente.

El aparato de electroforesis según la presente invención puede estar dispuesto de manera que incluye una estructura en la que la sección de separación de muestras, el primer depósito de tampón y el segundo depósito de tampón se integran.

Con esta disposición, en la que la sección de separación de muestras, el primer depósito de tampón y el segundo depósito de tampón se integran en una única unidad, es fácil manipularlos.

10 El aparato de electroforesis según la presente invención puede estar dispuesto de manera que incluye además: un tapón para la conformación del medio, proporcionándose el tapón de manera desprendible para cubrir la porción expuesta del medio de separación de muestras en el primer depósito de tampón; y un sello para la conformación del medio, sellando el sello la abertura de comunicación.

15 Con esta disposición en la que se proporcionan el tapón para la conformación del medio y el sello para la conformación del medio, el medio de separación de muestras puede colarse fácilmente para dar una conformación en la sección de separación de muestras usando el tapón y el sello.

El aparato de electroforesis según la presente invención puede estar dispuesto de manera que el primer depósito de tampón y el tapón están configurados de manera que, cuando el tapón se une dentro del primer depósito de tampón, el primer depósito de tampón tiene todavía espacio para contener un líquido.

20 Con esta disposición, el tapón para la conformación del medio no llena el primer depósito de tampón. Por tanto, el tapón puede retirarse fácilmente del primer depósito de tampón. Además, por ejemplo, en el caso en el que el medio de separación de muestras sea un gel de amida acrílica, que se solidifica en condiciones anaerobias, no es preferible que el tapón llene el primer depósito de tampón, porque el gel se solidificaría en un hueco entre el tapón y el primer depósito de tampón. En la presente realización, sin embargo, se configura que el tapón no llene el primer depósito de tampón completamente, impidiendo de ese modo la solidificación del gel en el hueco.

25 El aparato de electroforesis según la presente invención puede estar dispuesto preferiblemente de manera que la sección de separación de muestras tenga una primera sección de acoplamiento y el tapón tenga una tercera sección de acoplamiento, en el que la primera sección de acoplamiento y la tercera sección de acoplamiento están configuradas para acoplarse entre sí, y el primer depósito de tampón tenga una segunda sección de acoplamiento y el tapón tenga una
30 cuarta sección de acoplamiento, en el que la segunda sección de acoplamiento y la cuarta sección de acoplamiento están configuradas para acoplarse entre sí.

Con esta disposición, es posible sujetar fácilmente el tapón al aparato de electroforesis.

35 El aparato de electroforesis según la presente invención puede estar dispuesto preferiblemente de manera que: la primera sección de acoplamiento y la tercera sección de acoplamiento están configuradas para acoplarse entre sí al estar configuradas de manera que la primera sección de acoplamiento tiene una sección de saliente y la tercera sección de acoplamiento tiene una sección de rebajo correspondiente a la sección de saliente, o al estar configuradas de manera que la primera sección de acoplamiento tiene una sección de rebajo y la tercera sección de acoplamiento tiene una sección de saliente correspondiente a la sección de rebajo, y la segunda sección de acoplamiento y la cuarta sección de acoplamiento están configuradas para acoplarse entre sí al estar configuradas de manera que la segunda sección de acoplamiento tiene una sección de saliente y la cuarta sección de acoplamiento tiene una sección de rebajo correspondiente a la sección de saliente, o al estar configuradas de manera que la segunda sección de acoplamiento tiene una sección de rebajo y la cuarta sección de acoplamiento tiene una sección de saliente correspondiente a la sección de rebajo. Es preferible que el acoplamiento entre la primera sección de acoplamiento y la tercera sección de acoplamiento tenga una profundidad diferente del acoplamiento entre la segunda sección de acoplamiento y la cuarta sección de acoplamiento.
45

Con esta disposición, la segunda sección de acoplamiento y la cuarta sección de acoplamiento pueden acoplarse suavemente incluso después del acoplamiento de la primera sección de acoplamiento y la tercera sección de acoplamiento, en el caso en el que el acoplamiento de la segunda sección de acoplamiento y la cuarta sección de acoplamiento sea más profundo que el acoplamiento de la primera sección de acoplamiento y la tercera sección de acoplamiento. Alternativamente, en el caso en el que la primera sección de acoplamiento y la tercera sección de acoplamiento es más profunda que el acoplamiento de la segunda sección de acoplamiento y la cuarta sección de acoplamiento, la primera sección de acoplamiento y la tercera sección de acoplamiento pueden acoplarse suavemente incluso después del acoplamiento de la segunda sección de acoplamiento y la cuarta sección de acoplamiento. De este modo, el acoplamiento de un par de las secciones de acoplamiento puede realizarse después del acoplamiento del otro par de las secciones de acoplamiento, al tiempo que se deja que salga el aire del medio de separación de muestras. Por tanto, la conformación del medio de separación de muestras puede realizarse apropiadamente.
50
55

El aparato de electroforesis según la presente invención puede estar dispuesto preferiblemente de manera que: el tapón tiene una sección de solapamiento para solaparse con una superficie de la sección de separación de muestras o una pared lateral del primer depósito de tampón.

5 Con esta disposición, la sección de solapamiento no permite que entre aire dentro del tapón, haciendo posible de ese modo realizar la conformación del medio de separación de muestras apropiadamente.

El aparato de electroforesis según la presente invención puede estar dispuesto preferiblemente de manera que: la sección de solapamiento tiene una anchura de solapamiento de al menos 1 mm.

10 Con esta disposición, en la que la sección de solapamiento tiene una anchura de solapamiento de al menos 1 mm, se hace más difícil que entre aire dentro del tapón. Por tanto, es posible realizar la conformación del medio de separación de muestras más apropiadamente.

El aparato de electroforesis según la presente invención puede estar dispuesto preferiblemente de manera que la abertura de comunicación está ubicada sobre una superficie superior de la sección de separación de muestras.

15 Con esta disposición, en la que la abertura de comunicación está ubicada sobre la superficie superior de la sección de separación de muestras, el sello para sellar la abertura de comunicación está también unido sobre la superficie superior de la sección de separación de muestras. Por tanto, es muy conveniente que el sello pueda retirarse fácilmente de la sección de separación de muestras.

20 El aparato de electroforesis según la presente invención puede estar dispuesto preferiblemente de manera que el medio de separación de muestras tiene una porción abombada que está abombada hacia abajo y ubicada sobre un lado distal a la sección expuesta y en una región que va desde la abertura de comunicación hasta un borde del medio de separación de muestras.

25 Con esta disposición, la porción abombada está ubicada más cerca del borde del medio de separación de muestras que lo que está la abertura de comunicación. Por tanto, la ubicación de la porción abombada no impide la separación de muestras en el medio de separación de muestras. La porción abombada permite que el medio de separación de muestras tenga un peso superior. Al desensamblar la sección de separación de muestras para la retirada del medio de separación de muestras, esto facilita que el medio de separación de muestras se mantenga en una parte inferior de la sección de separación de muestras. Además, al permitir que el medio de separación de muestras contenga un electrolito, se hace posible suministrar el electrolito a partir de la porción abombada.

30 Según un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona un método de realización de electroforesis según la reivindicación independiente 15, con el uso de un aparato de electroforesis que comprende una sección de separación de muestras para contener un medio de separación de muestras para separar una muestra en una dirección de separación, conteniendo la sección de separación de muestras el medio de separación de muestras de tal manera que el medio de separación de muestras tiene una porción expuesta en un extremo de una superficie del medio de separación de muestras, estando la superficie en paralelo con la dirección de separación, comprendiendo dicho método: conectar el medio de separación de muestras con un medio que contiene muestra en una región de conexión, conteniendo el medio que contiene muestra la muestra, y satisfaciendo la región de conexión la ecuación (1):

$$Y \geq 0,4 \times X \cdots (1),$$

40 donde $X > 0$ y X es una distancia en la dirección de separación desde un extremo interior de la porción expuesta expuesta sobre la superficie del medio de separación de muestras, hasta un extremo interior del medio que contiene muestra, e Y es una distancia por la cual el medio que contiene muestra se empuja dentro del medio de separación de muestras en una dirección perpendicular a la dirección de separación, en el que: el aparato de electroforesis comprende además un primer depósito de tampón y un segundo depósito de tampón, conteniendo el primer depósito de tampón al menos parte de la porción expuesta, estando ubicado el segundo depósito de tampón de tal manera que la sección de separación de muestras estará entre el segundo depósito de tampón y la porción expuesta, y teniendo la sección de separación de muestras una abertura de comunicación para la comunicación entre el medio de separación de muestras y el segundo depósito de tampón.

Efectos ventajosos de la invención

50 Con la técnica de electroforesis según la presente invención, un medio de separación de muestras para separar una muestra puede conectarse, en una posición apropiada, con un medio que contiene muestra para contener la muestra. Por tanto, la técnica de electroforesis según la presente invención puede lograr una mayor precisión que las técnicas convencionales.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1

La figura 1 es una vista en sección transversal que ilustra esquemáticamente una configuración de un aparato de electroforesis según una realización de la presente invención.

Figura 2

La figura 2 es una vista en perspectiva que ilustra esquemáticamente la configuración del aparato de electroforesis según la realización de la presente invención.

Figura 3

- 5 La figura 3 es una vista esquemática que ilustra una variación de un modo de conexión de un medio que contiene muestra y un medio de separación de muestras en la electroforesis según una realización de la presente invención.

Figura 4

La figura 4 es una vista en sección transversal que ilustra esquemáticamente el aparato de electroforesis según una realización de la presente invención en cuanto a la formación de un medio de separación de muestras.

10 Figura 5

La figura 5 es una vista en perspectiva que ilustra esquemáticamente una configuración de un tapón para la conformación del medio para el aparato de electroforesis según una realización de la presente invención.

Figura 6

- 15 La figura 6 es una vista en sección transversal que ilustra un modelo de un aparato de electroforesis usado en el ejemplo de cálculo 1.

Figura 7

La figura 7 es una vista que ilustra los resultados de simulación en el ejemplo de cálculo 1.

Figura 8

La figura 8 es una vista que ilustra un resultado de simulación en el ejemplo de cálculo 1.

20 Figura 9

La figura 9 es una vista que ilustra un resultado de simulación en el ejemplo de cálculo 1.

Figura 10

La figura 10 es una vista que ilustra un resultado de simulación en el ejemplo de cálculo 2.

Figura 11

- 25 La figura 11 es una vista que ilustra un resultado de electroforesis en el ejemplo 1.

Figura 12

La figura 12 es una vista que ilustra un resultado de electroforesis en el ejemplo 2.

Descripción de realizaciones

- 30 La figura 1 es una vista en sección transversal que ilustra esquemáticamente una configuración de un aparato de electroforesis 100 según una realización de la presente invención. La figura 2 es una vista en perspectiva que ilustra esquemáticamente una configuración del aparato de electroforesis 100. Tal como se ilustra en la figura 1, el aparato de electroforesis 100 está configurado de manera que una sección de separación de muestras 101 que incluye una primera placa 102 y una segunda placa 103 paralela con la primera placa contiene un medio de separación de muestras 150 entre medias. El medio de separación de muestras 150 es un medio en el que va a separarse una muestra en una dirección horizontal a lo largo del medio. La sección de separación de muestras 101 contiene el medio de separación de muestras 150 de tal manera que una porción (una porción expuesta 151) del medio de separación de muestras 150 está expuesta en un borde de una superficie paralela con la dirección horizontal. El término "extremo interior de la porción expuesta (parte expuesta)" usado en esta descripción pretende significar la porción del medio de separación de muestras que está expuesta y está en contacto con una sección de separación de muestras.
- 35 Además, el aparato de electroforesis 100 tiene un primer depósito de tampón 104 y un segundo depósito de tampón 105. Al menos parte de la porción expuesta 151 se inserta dentro del primer depósito de tampón 104. El segundo depósito de tampón 105 está ubicado de tal manera que la sección de separación de muestras 101 está entre el segundo depósito de tampón 105 y la sección expuesta 151. La primera placa 102 de la sección de separación de muestras 101 tiene una abertura de comunicación 106 para la comunicación entre el medio de separación de muestras 150 y el segundo depósito de tampón 105.
- 40
- 45

El medio de separación de muestras 150 tiene una porción abombada 152 en una región que va desde la abertura de comunicación 106 hasta un borde del medio de separación de muestras 150 y en un lado distal hasta la sección expuesta 151. La porción abombada 152 está abombada hacia abajo.

Además, el aparato de electroforesis 100 incluye medios de conexión del medio que incluyen una sección de contención 107 y un brazo de transporte 108. La sección de contención 107 soporta un medio que contiene muestra 160 en el que está contenida una muestra. El brazo de transporte 108 está configurado para desplazar la sección de contención 107. En una realización, el brazo de transporte 108 es un brazo de transporte capaz de desplazar la sección de contención 107 en direcciones bidimensionales tal como se ilustra en la figura 2, y está configurado para transferir el medio que contiene muestra 160 desde un sitio de almacenamiento de medio que contiene muestra 161 hasta una posición en la que el medio que contiene muestra 160 se conecta con el medio de separación de muestras 150.

Tal como se ilustra en la figura 1, la sección de separación de muestras 101, el primer depósito de tampón 104 y el segundo depósito de tampón 105 pueden integrarse en una única estructura, de modo que la única estructura puede usarse como un chip para su uso en electroforesis.

La primera placa 102 y la segunda placa 103 pueden estar hechas de un material aislante tal como un material acrílico, vidrio, etc. La sección de separación de muestras 101 está configurada de manera que la primera placa 102 y la segunda placa 103 se adhieren entre sí para contener el medio de separación de muestras 150 entre medias. Después de que se realice la electroforesis con la sección de separación de muestras 101, la primera placa 102 y la segunda placa 103 se quitan de la sección de separación de muestras 101 usando una herramienta tal como una espátula. De ese modo, el medio de separación de muestras 150 se retira de la sección de separación de muestras 101 para someterse a un análisis posterior. La primera placa 102 y la segunda placa 103 pueden adherirse entre sí con un adhesivo general, pero es preferible adherir la primera placa 102 y la segunda placa 103 mediante soldadura ultrasónica porque la soldadura ultrasónica está libre de dispersión del adhesivo, y problemas similares.

La segunda placa 103 se extiende tanta longitud como el medio de separación de muestras 150. Por tanto, cuando la primera placa 102 y la segunda placa 103 están separadas entre sí, el medio de separación de muestras 150 puede permanecer fácilmente sobre la segunda placa 103. Es decir, es la segunda placa 103 la que soporta un lado lateral del medio de separación de muestras 101 (no ilustrado). Además, tal como se describió anteriormente, el medio de separación de muestras 150 tiene la porción abombada 152, haciendo de ese modo más fácil que permanezca el medio de separación de muestras 150 sobre la segunda placa 103. Debido a que al análisis posterior se le suministra el medio de separación de muestras 150 de tal forma que permanezca sobre la segunda placa 103, el análisis posterior puede realizarse de una manera fija.

El medio que contiene muestra 160 y el medio de separación de muestras 150 pueden ser cualquier clase de medio que se use generalmente para electroforesis. Por ejemplo, el medio que contiene muestra 160 y el medio de separación de muestras 150 pueden ser un gel o geles que contiene(n) un agente gelificante seleccionado del grupo que consiste en amidas poliacrílicas, agarosa, agar y almidón.

El medio que contiene muestra 160 contiene una muestra que va a someterse a la electroforesis. La muestra puede estar distribuida uniformemente por todo el medio que contiene muestra 160. Sin embargo, puede realizarse una electroforesis primaria sobre el medio que contiene muestra 160.

El medio que contiene muestra 160 está conectado con la sección expuesta 151 del medio de separación de muestras 150 tal como se ilustra en la figura 3. Además, en una realización, el medio que contiene muestra 160 se transfiere sobre la parte superior de la porción expuesta 151 tal como se ilustra en la figura 3(a), entonces el medio que contiene muestra 160 se empuja dentro de la porción expuesta 151 hacia abajo, de modo que el medio que contiene muestra 160 y la porción expuesta 151 se conectan entre sí (etapa de conexión de medios). Cuando están conectados entre sí, el medio que contiene muestra 160 y la porción expuesta 151 están conectados por medio de una región de conexión que satisfice la siguiente ecuación (1). Mediante esto, se hace posible transferir apropiadamente la muestra desde el medio que contiene muestra 160 hasta el medio de separación de muestras.

$$Y \geq 0,4 \times X \cdots (1),$$

donde X es una distancia horizontal desde un extremo interior de la porción expuesta 151 hasta el medio que contiene muestra 160, e Y es una distancia en una dirección vertical.

Además, es preferible que el medio de separación de muestras 150 tenga una sección de soporte 153 cuya parte superior alcanza una altura igual a o mayor que el extremo interior de la porción expuesta 151 tal como se ilustra en la figura 3(b), y que la región de conexión esté ubicada sobre la sección de soporte 153, tal como se ilustra en la figura 3(b). Por ejemplo, una configuración en la que la región de conexión está sobre la sección de soporte 153 tal como se ilustra en la figura 3(b) es más preferible que una configuración en la que la región de conexión está fuera de la sección de soporte 153 tal como se ilustra en la figura 3(c).

Además, es preferible que el medio que contiene muestra 160 tenga una mayor viscoelasticidad que el medio de separación de muestras 150. En otras palabras, es preferible que el medio de separación de muestras 150 y el medio que contiene muestra 160 se diferencien respectivamente en cuanto a su resistencia estructural de manera que el medio que

contiene muestra 160 no se deformará sino que el medio de separación de muestras 150 se deformará, cuando el medio de separación de muestras 150 está unido al medio que contiene muestra 160. Con esta configuración, se hace posible deformar apropiadamente la sección de soporte 153 tal como se ilustra en la figura 3. Para diferenciar el medio de separación de muestras 150 y el medio que contiene muestra 160 en cuanto a viscoelasticidad y resistencia estructural, la viscoelasticidad y resistencia estructural del medio de separación de muestras 150 y el medio que contiene muestra 160 pueden ajustarse, por ejemplo, preparando el medio de separación de muestras 150 y el medio que contiene muestra 160 con diferentes clases de agentes gelificantes, o más preferiblemente, con un agente gelificante idéntico en cantidades diferentes de manera que el medio que contiene muestra 160 tenga un mayor contenido de agente gelificante que el medio de separación de muestras 150.

La figura 4 es una vista en sección transversal que ilustra esquemáticamente el aparato de electroforesis según una realización de la presente invención en cuanto a la formación de un medio de separación de muestras. Tal como se ilustra en la figura 4, la sección de separación de muestras 101 se sella de tal manera que la porción expuesta 151 se cubre con un tapón 130 para la conformación del medio y la abertura de comunicación 106 se cubre con un sello 120 para la conformación del medio. De este modo, el medio de separación de muestras 150 puede formarse dentro de la sección de separación de muestras 101.

En este caso, el tapón 130 no llena el primer depósito de tampón 104. Por tanto, el tapón 130 puede retirarse fácilmente del primer depósito de tampón 104. Además, por ejemplo, en el caso en el que el medio de separación de muestras 150 es un gen de amida acrílica, que se solidifica en condiciones anaerobias, no es preferible que el tapón 130 llene el primer depósito de tampón 104, porque el gel se solidificaría en un hueco entre el tapón 130 y el primer depósito de tampón 104. En la presente realización, sin embargo, está configurado de manera que el tapón 130 no llena el primer depósito de tampón 104 completamente, impidiendo de ese modo la solidificación del gel en el hueco.

La figura 5 (a) es una vista en perspectiva que ilustra conformaciones de la sección de separación de muestras 101 y el primer depósito de tampón 104, con el que el tapón 130 para la conformación del medio va a acoplarse. La figura 5(b) es una vista en perspectiva que ilustra esquemáticamente una configuración del tapón 130 para la conformación del medio, tal como se ilustra en las figuras 5(a) y 5(b), una sección de rebajo (primera sección de acoplamiento) 109 de la sección de separación de muestras 101 y una sección de saliente (tercera sección de acoplamiento) 131 del tapón 130 van a acoplarse entre sí. Mientras tanto, una sección de rebajo (segunda sección de acoplamiento) 110 del primer depósito de tampón 104 y una sección de saliente (cuarta sección de acoplamiento) 132 del tapón 130 van a acoplarse entre sí. Debido a que el acoplamiento entre la sección de rebajo 110 y la sección de saliente 132 se acopla más profundamente que el acoplamiento entre la sección de rebajo 109 y la sección de saliente 131, un usuario puede realizar en primer lugar el acoplamiento entre la sección de rebajo 110 y la sección de saliente 132, y en segundo lugar el acoplamiento entre la sección de rebajo 109 y la sección de saliente 131. De este modo, es posible acoplar el tapón 130 con la sección de separación de muestras 101 y el primer depósito de tampón 104 sin permitir que entre aire en el mismo.

Tal como se ilustra en la figura 5(b), el tapón 130 tiene una sección de solapamiento de 1 mm de anchura, que se solapa con una superficie de la sección de separación de muestras 101 y una pared lateral del primer depósito de tampón 104. Con esta configuración, el tapón 130 puede acoplarse con la sección de separación de muestras 101 y el primer depósito de tampón 104, impidiendo de ese modo que entre aire en el gel después del acoplamiento.

(Ejemplo de cálculo 1)

Para determinar una posición de conexión apropiada para la conexión entre el medio de separación de muestras y el medio que contiene muestra, se llevó a cabo una simulación informática de una electroforesis de una muestra usando, como modelo, un aparato de electroforesis tal como se ilustra en la figura 6.

Tal como se ilustra en la figura 6, el aparato de electroforesis 200 se configuró de manera que, entre un cátodo 201 y un ánodo 202, se proporcionó un gel (medio de separación de muestras) 205 de 1 mm de grosor intercalado entre placas acrílicas 203 y 204 de 2 mm de grosor. La placa acrílica 203 estaba ausente en el lado del cátodo 201, exponiendo de ese modo el 205 por 10 mm sobre el lado del cátodo 201. Un gel (medio que contiene muestra) 207 de 0,4 mm de grosor y 1,2 mm de anchura y soportado sobre un soporte 206 se empujó dentro de la porción expuesta del gel 205. En este caso, X era la distancia entre el gel 207 y el extremo del lado del cátodo de la placa acrílica 203, siendo el extremo del lado del cátodo proximal al cátodo 201 (es decir, X era una distancia por la cual la muestra se desplazaba a través del gel expuesto 205), e Y era una distancia entre el lado superior del gel 205 y el lado superior del gel 207 (es decir, Y era la distancia por la cual el gel 207 se empujó dentro del gel 205).

Los geles 205 y 207 tenían una constante dieléctrica igual a la del agua. Una muestra (partículas cargadas) sometida a prueba en el presente documento era lisozima modelada. La movilidad de la lisozima modelo se calculó a partir de los valores de medición reales de SDS-PAGE de lisozima. Se supuso que la lisozima modelo iba a introducirse en el gel (medio de separación de muestras) 205 desde ocho (8) posiciones del gel (medio que contiene muestra) 207, donde las ocho posiciones eran internas en el gel 205 por 0,02 mm desde las cuatro esquinas del gel 207 y los puntos medios de los cuatro lados del gel 207, respectivamente.

La figura 7 es una vista que ilustra resultados de simulación donde Y era 0 mm y X se varió en un intervalo de 0 a 3 mm. En la figura 7, el lado a mano izquierda muestra el movimiento de la lisozima modelada en las proximidades de la posición

donde el gel 207 se empujó, mientras que el lado a mano derecha muestra el movimiento de la lisozima modelada en las proximidades el extremo del lado del ánodo del gel 205, siendo el extremo del lado del ánodo proximal al ánodo 202. Las figuras 8, 9 y 10 se ilustran de la misma manera.

Cuando $X = 0$ mm, la lisozima modelada se desplazó en el gel 205 pero no se difundió en el tampón, tal como se muestra en el n.º 1. La lisozima modelada se introdujo en el gel 205 desde el punto medio del lado superior del gel 207 y las posiciones en el lado a mano derecha del gel 207 se bloquearon mediante una pared (placa acrílica 203) proporcionada en el gel. Cuando $X = 0,5$ mm, $0,75$ mm, 1 mm, $1,5$ mm o 2 mm, se observó difusión de la lisozima modelada en el tampón tal como se muestra en el n.º 2, n.º 3, n.º 4, o n.º 6. Mientras tanto, la lisozima modelada no se bloqueó mediante la pared en estos casos. Cuando $X = 3$ mm, tal como se ilustra en el n.º 7, se observó difusión de la lisozima modelada en el tampón. En este caso, sin embargo, la lisozima modelada desde el medio del lado superior del gel 207 se bloqueó mediante la pared (placa acrílica 203).

Tal como se describió anteriormente, cuando $Y = 0$ mm, se observó el movimiento de la lisozima modelada en el gel (medio de separación de muestras) 205 desde todas las posiciones del gel (medio que contiene muestra) 207 solo en el caso en el que $X = 0$ mm.

La figura 8 es una vista que ilustra resultados de simulación, en donde $Y = 0,3$ mm y X se varió en el intervalo de 0 a 3 mm.

Cuando $X = 0$ mm, $0,5$ mm o $0,75$ mm, se observó el movimiento de la lisozima modelada en el 205, pero la lisozima modelada no se difundió en el tampón y tampoco se bloqueó mediante la placa acrílica. Cuando $X = 1$ mm, $1,5$ mm o 2 mm, la lisozima modelada se difundió en el tampón tal como se muestra en el n.º 11, n.º 12 o n.º 13. En estos casos, la lisozima modelada no se bloqueó mediante la pared. Cuando $X = 3$ mm, se observó la difusión de la lisozima modelada en el tampón tal como se ilustra en el n.º 14, pero la lisozima modelada desde el punto medio del lado superior del gel 207 se bloqueó mediante la pared (placa acrílica 203).

Tal como se describió anteriormente, cuando $Y = 0,3$ mm, se observó el movimiento de la lisozima modelada en el gel (medio de separación de muestras) 205 desde todas las posiciones del gel (medio que contiene muestra) 207 solo en el caso en el que $X = 0,75$ mm o menos.

La figura 9 es una vista que ilustra resultados de simulación en donde $Y = 0,6$ mm y X se varió en un intervalo de 0 a 3 mm.

Cuando $X = 0$ mm, se observó el movimiento de la lisozima modelada en el gel 205 sin la difusión del mismo en el tampón, tal como se ilustra en el n.º 15. La lisozima modelada desde la porción izquierda del lado inferior del gel 207 se bloqueó mediante la pared (placa acrílica 204). Cuando $X = 0,5$ mm, $0,75$ mm, 1 mm o $1,5$ mm, se observó el movimiento de la lisozima modelada en el gel 205 sin la difusión del mismo en el tampón, tal como se ilustra en el n.º 16, n.º 17 o n.º 19. La lisozima modelada desde tres posiciones en el lado inferior del gel 207 se bloqueó mediante la pared (placa acrílica 204). Cuando $X = 2$ mm, la lisozima modelada se difundió en el tampón, tal como se ilustra en el n.º 20. Además, la lisozima modelada desde las tres posiciones en el lado inferior del gel 207 se bloqueó mediante la pared (placa acrílica 204). Cuando $X = 3$ mm, tal como se ilustra en el n.º 21, la lisozima modelada se difundió en el tampón. Mientras tanto, en este caso, la lisozima modelada desde el punto medio del lado superior del gel 207 se bloqueó mediante la pared (placa acrílica 203) y la lisozima modelada desde los tres puntos en el lado inferior del gel 207 se bloqueó mediante la pared (placa acrílica 204).

Tal como se describió anteriormente, cuando $Y = 0,6$ mm, se observó el movimiento de la lisozima modelada en el gel (medio de separación de muestras) 205 desde todas las posiciones del gel (medio que contiene muestra) 207 solo en el caso donde $X = 1,5$ mm o menos.

La tabla 1 muestra los resultados anteriores, "○" indica que la lisozima modelada desde todos los puntos se desplazó en el gel (medio de separación de muestras 205) mientras que "×" indica que la lisozima modelada desde cualquiera de los puntos se difundió en el tampón.

Tabla 1

	X (mm)						
	0	0,5	0,75	1	1,5	2	3
Y=0,0 mm	N.º 1 ○	N.º 2 ×	N.º 3 ×	N.º 4 ×	N.º 5 ×	N.º 6 ×	N.º 7 ×
Y=0,3 mm	N.º 8 ○	N.º 9 ○	N.º 10 ○	N.º 11 ×	N.º 12 ×	N.º 13 ×	N.º 14 ×
Y=0,6 mm	N.º 15 ○	N.º 16 ○	N.º 17 ○	N.º 18 ○	N.º 19 ○	N.º 20 ×	N.º 21 ×

Tal como se ilustra en la tabla 1, se obtuvieron resultados favorables cuando la región de conexión por medio de la cual se conectaban el gel 207 y el gel 205 satisfacía la siguiente ecuación (1):

$$Y \geq 0,4 \times X \dots (1),$$

donde X es una distancia desde el gel (medio que contiene muestra) 207 hasta la placa acrílica (placa superior para el gel) 203, e Y es una distancia desde el lado superior del gel 207 hasta el lado superior del gel (medio de separación de muestras) 205.

(Ejemplo de cálculo 2)

- 5 Para analizar cómo el grosor del gel 025 afectaba a los resultados de la simulación en el ejemplo de cálculo 1, se repitió la simulación basándose en el modelo del ejemplo de cálculo 1 pero con diferentes grosores del gel 205.

La figura 10 es una vista que ilustra resultados de simulación, en donde $X = 1$ mm, $Y = 0,6$ mm, y el grosor del gel 205 se varió en el intervalo de 1 a 9 mm. Los modelos 1 a 4 muestran respectivamente los resultados de la simulación con el gel 205 de 1 mm, 3 mm, 6 mm y 9 mm de grosor.

- 10 Tal como se muestra en los modelos 1 a 4, no se observó difusión de la lisozima modelada en el tampón con el gel 205 de cualquiera de estos grosores. En el modelo 1, la lisozima modelada desde tres posiciones en el lado inferior del gel 207 se bloqueó mediante la pared (placa acrílica 204). En los modelos 2 a 4, el grosor grueso del gel 205 impidió que la lisozima modelada hiciera tope con la pared.

- 15 En los modelos 2 a 4 con el grosor grueso del gel 205, se observó que el transcurso del movimiento de la lisozima modelada mostró curvas hacia abajo grandes inmediatamente después de que la lisozima modelada se desplazara fuera del gel 207, en comparación con el modelo 1. Se deduce que el grosor grueso del gel 205 se atribuía al movimiento peculiar con las curvas hacia abajo grandes. En las proximidades del gel 207, las líneas de flujo eléctrico se bloquearon mediante el soporte 206 y de ese modo se curvaron hacia abajo. Se deduce que, en el modelo 1, la placa acrílica 204 está ubicada justo por debajo del gel 207, impidiendo de ese modo la curvatura hacia abajo de las líneas de flujo eléctrico, mientras que el grosor grueso del gel 205 permite que las líneas de flujo eléctrico se curven hacia abajo en el gel 205 justo por debajo del gel 207 en los modelos 2 a 4, dando como resultado de ese modo el transcurso hacia abajo del movimiento de la lisozima modelada inmediatamente después de que la lisozima modelada se desplace fuera del gel 207.

Por tanto, se considera que el transcurso del movimiento de electroforesis de la lisozima modelada (muestra) no se ve influido por el grosor del gel (medio de separación de muestras) 205.

- 25 (Ejemplo experimental 1)

Se preparó un aparato de electroforesis según la presente invención tal como se ilustra en la figura 1. Se realizó realmente la electroforesis usando el aparato de electroforesis con diversos parámetros X e Y. Se detectó la separación de las muestras mediante fluorescencia. El medio que contiene muestra era un medio de gel IPG en el que se había realizado una electroforesis en una primera dimensión de proteínas solubles de hígado de ratón.

- 30 La figura 11 es una vista que ilustra manchas fluorescentes obtenidas como resultado de la electroforesis en la que $Y = 0,3$ mm y X se varió en un intervalo de 0 a 2 mm. Tal como se ilustra en la figura 11, había una tendencia a que un aumento en X provocara una disminución en la intensidad de proteína global. Además, cuando X e Y satisfacían la ecuación (1), es decir, cuando $X = 0$ mm o 0,5 mm, las manchas no mostraban colas tal como se muestra en el n.º 8 o n.º 9. Cuando $X = 1$ mm, las manchas mostraban ligeras colas tal como se muestra en el n.º 11. Por otro lado, en el caso en el que X e Y no satisfagan la ecuación (1), es decir, cuando $X = 1,5$ mm o 2 mm, las manchas mostraban colas tal como se muestra en el n.º 12 o n.º 13.

(Ejemplo experimental 2)

- 40 Se preparó un aparato de electroforesis según la presente invención tal como se ilustra en la figura 1. Se realizó realmente la electroforesis usando el aparato de electroforesis. Se detectó la separación de las muestras mediante fluorescencia. El medio que contiene muestra era un medio de gel IPG en el que se había realizado una electroforesis en una primera dimensión de proteínas solubles de hígado de ratón. La figura 12(a) muestra resultados de electroforesis usando un método de conexión (1 etapa) en el que la sección de soporte 153 se formó tal como se ilustra en la figura 3(b). La figura 12(b) muestra resultados de electroforesis usando un método de conexión (2 etapas) en el que no se formó una sección de soporte tal como se ilustra en la figura 3(c). Tal como se ilustra en la figura 12, el resultado era mejor en la configuración en la que el medio que contiene muestra se conectó verticalmente al medio de separación de muestras a lo largo de una dirección perpendicular a una dirección en la que se separaba la muestra, que en la configuración (2 etapas) en la que el medio que contiene muestra se conectó lateralmente al medio de separación de muestras a lo largo de la dirección en la que se separaba la muestra.

- 50 Además, las respectivas imágenes de los resultados se detectaron usando Typhoon (GE healthcare), y se sometieron a procesamiento de imágenes mediante PDQuest (BioRad). Entonces, usando ProFinder (Perkin Elmer), se detectó cada mancha y se analizó en cuanto a su intensidad de fluorescencia de mancha y punto de gravedad de mancha. A partir de las coordenadas de la gravedad de la mancha, se determinaron una posición superior del pico y la mitad del valor de la anchura de la mancha. La tabla 2 muestra los resultados del análisis.

Tabla 2

Mancha	1 etapa		2 etapas	
	Mitad del valor de la anchura Y	C V	Mitad del valor de la anchura Y	C V
N.º 1	9,75	9,819765	14,25	15,56039
N.º 2	8,75	5,714286	11,75	23,43647
N.º 3	13,25	11,32075	14,75	10,16949
N.º 4	12,5	10,32796	13,25	7,225865
N.º 5	13,75	12,42055	14,25	3,508772
N.º 6	11	16,59765	13,75	19,12695
N.º 7	13,25	16,73476	16	26,02082
N.º 8	16	29,3151	15	19,62614
N.º 9	12,25	13,94143	11,75	8,148316
N.º 10	10,5	19,82539	9,75	21,14413
N.º 11	15,25	18,83463	16	5,103104

Tal como se muestra en la tabla 2, la configuración de 1 etapa tenía una mitad del valor de la anchura más pequeña, teniendo de ese modo una mayor resolución. Se deduce que una transferencia más suave de la muestra desde el gel que contiene muestra hasta el gel de separación de muestras se atribuye a la mitad del valor de la anchura más pequeña y a la mayor resolución. La simulación (no mostrada) no mostró diferencias entre la configuración de 1 etapa y la configuración de 2 etapas.

Aplicabilidad industrial

La presente invención, capaz de proporcionar una solución a los inconvenientes del aparato de electroforesis bidimensional, puede facilitar las investigaciones del proteoma realizadas recientemente con intensidad. Al producir y sellar diversos componentes para su uso en el aparato de electroforesis según la presente invención, es posible estimular los mercados.

Lista de signos de referencia

100, 200: Aparato de electroforesis

101: Sección de separación de muestras

102: Primera placa

103: Segunda placa

203, 204: Placa acrílica

104: Primer depósito de tampón

105: Segundo depósito de tampón

106: Abertura de comunicación

107, 206: Sección de contención

108: Brazo de transporte

109: Sección de rebajo (primera sección de acoplamiento)

110: Sección de rebajo (sección de acoplamiento de sección)

120: Sello para la conformación del medio

130: Tapón para la conformación del medio

131: Sección de saliente (tercera sección de acoplamiento)

132: Sección de saliente (cuarta sección de acoplamiento)

150, 205: Medio de separación de muestras

151: Porción expuesta

152: Porción abombada

153: Sección de soporte

160, 207: Medio que contiene muestra

161: Sitio de almacenamiento de medio que contiene muestra

REIVINDICACIONES

1. Aparato de electroforesis (100), que comprende:

una sección de separación de muestras (101) para contener un medio de separación de muestras (150) para separar una muestra en una dirección de separación, conteniendo la sección de separación de muestras (101) el medio de separación de muestras (150) de tal manera que el medio de separación de muestras (150) tiene una porción expuesta (151) en un extremo de una superficie del medio de separación de muestras (150), estando la superficie en paralelo con la dirección de separación;

medios de conexión del medio (107, 108) para conectar un medio que contiene muestra (160) con el medio de separación de muestras (150) en una región de conexión sobre la porción expuesta (151), conteniendo el medio que contiene muestra (160) una muestra, y satisfaciendo la región de conexión la siguiente ecuación (1):

$$Y \geq 0,4 \times X \cdots (1),$$

donde $X > 0$ y X es una distancia en la dirección de separación desde un extremo interior de la porción expuesta (151) expuesta sobre la superficie superior del medio de separación de muestras (150), hasta un extremo interior del medio que contiene muestra (160), e Y es una distancia en una dirección perpendicular a la dirección de separación desde el extremo interior de la porción expuesta (151) expuesta sobre la superficie superior del medio de separación de muestras (150) hasta la región de conexión;

un primer depósito de tampón (104) que contiene al menos parte de la porción expuesta (151); y

un segundo depósito de tampón (105) que está ubicado de tal manera que la sección de separación de muestras (101) estará entre el segundo depósito de tampón (105) y la porción expuesta (151),

teniendo la sección de separación de muestras (101) una abertura de comunicación (106) para la comunicación entre el medio de separación de muestras (150) y el segundo depósito de tampón (105).

2. Aparato de electroforesis (100) según la reivindicación 1, en el que:

el medio de separación de muestras (150) tiene una sección de soporte (153) cuya parte superior alcanza una altura igual a o mayor que el extremo interior de la porción expuesta (151), y

la región de conexión está sobre la sección de soporte (153).

3. Aparato de electroforesis (100) según la reivindicación 1 o 2, en el que:

la sección de separación de muestras (101) tiene dos placas (102, 103) que son paralelas entre sí, para contener el medio de separación de muestras (150) entre medias.

4. Aparato de electroforesis (100) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que:

el medio que contiene muestra (160) y el medio de separación de muestras (150) son un gel o geles que contiene(n) un agente gelificante seleccionado del grupo que consiste en amidas poliacrílicas, agarosa, agar y almidón.

5. Aparato de electroforesis (100) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que:

el medio que contiene muestra (160) tiene una viscoelasticidad mayor que el medio de separación de muestras (150).

6. Aparato de electroforesis (100) según la reivindicación 1 que comprende una estructura en la que la sección de separación de muestras (101), el primer depósito de tampón (104) y el segundo depósito de tampón (105) se integran.

7. Aparato de electroforesis (100) según la reivindicación 1 o 6, que comprende, además:

un tapón (130) para la conformación del medio, proporcionándose el tapón (130) de manera desprendible para cubrir la porción expuesta (151) del medio de separación de muestras (150) en el primer depósito de tampón (104); y

un sello (120) para la conformación del medio, sellando el sello (120) la abertura de comunicación.

8. Aparato de electroforesis (100) según la reivindicación 7, en el que:

el primer depósito de tampón (104) y el tapón (130) están configurados de manera que, cuando el tapón (130) está unido dentro del primer depósito de tampón (104), el primer depósito de tampón (104) tiene todavía un espacio para contener un líquido.

9. Aparato de electroforesis (100) según la reivindicación 7 u 8, en el que:

la sección de separación de muestras (101) tiene una primera sección de acoplamiento (109) y el tapón (130) tiene una tercera sección de acoplamiento (131), en el que la primera sección de acoplamiento (109) y la tercera sección de acoplamiento (131) están configurada para acoplarse entre sí, y

5 el primer depósito de tampón (104) tiene una segunda sección de acoplamiento (110) y el tapón (130) tiene una cuarta sección de acoplamiento (132), en el que la segunda sección de acoplamiento (110) y la cuarta sección de acoplamiento (132) están configuradas para acoplarse entre sí.

10. Aparato de electroforesis (100) según la reivindicación 9, en el que:

10 la primera sección de acoplamiento (109) y la tercera sección de acoplamiento (131) están configurada para acoplarse entre sí al estar configuradas de manera que la primera sección de acoplamiento (109) tiene una sección de saliente y la tercera sección de acoplamiento (131) tiene una sección de rebajo correspondiente a la sección de saliente, o al estar configuradas de manera que la primera sección de acoplamiento (109) tiene una sección de rebajo y la tercera sección de acoplamiento (131) tiene una sección de saliente correspondiente a la sección de rebajo,

15 la segunda sección de acoplamiento (110) y la cuarta sección de acoplamiento (132) están configuradas para acoplarse entre sí al estar configuradas de manera que la segunda sección de acoplamiento (110) tiene una sección de saliente y la cuarta sección de acoplamiento (132) tiene una sección de rebajo correspondiente a la sección de saliente, o al estar configuradas de manera que la segunda sección de acoplamiento (110) tiene una sección de rebajo y la cuarta sección de acoplamiento (132) tiene una sección de saliente correspondiente a la sección de rebajo, y

20 el acoplamiento entre la primera sección de acoplamiento (109) y la tercera sección de acoplamiento (131) tiene una profundidad diferente del acoplamiento entre la segunda sección de acoplamiento (110) y la cuarta sección de acoplamiento (132).

11. Aparato de electroforesis (100) según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, en el que:

el tapón (120) tiene una sección de solapamiento para solaparse con una superficie de la sección de separación de muestras (101) o una pared lateral del primer depósito de tampón (104).

12. Aparato de electroforesis (100) según la reivindicación 11, en el que:

25 la sección de solapamiento tiene una anchura de solapamiento de al menos 1 mm.

13. Aparato de electroforesis (100), según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 12, en el que:

la abertura de comunicación (106) está ubicada sobre una superficie de la sección de separación de muestras (101).

14. Aparato de electroforesis (100) según en una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 13, en el que:

30 el medio de separación de muestras (150) tiene una porción abombada (152) que está abombada hacia abajo y ubicada sobre un lado distal a la sección de prolongación y en una región que va desde la abertura de comunicación hasta un borde del medio de separación de muestras (150).

35 15. Método de realización de electroforesis con el uso de un aparato de electroforesis (100) que comprende una sección de separación de muestras (101) para contener un medio de separación de muestras (150) para separar una muestra en una dirección de separación, conteniendo la sección de separación de muestras (101) el medio de separación de muestras (150) de tal manera que el medio de separación de muestras (150) tiene una porción expuesta (151) en un extremo de una superficie del medio de separación de muestras (150), estando la superficie en paralelo con la dirección de separación, comprendiendo dicho método:

conectar el medio de separación de muestras (150) con un medio que contiene muestra (160) en una región de conexión, conteniendo el medio que contiene muestra (160) la muestra, y satisfaciendo la región de conexión la ecuación (1):

40 $Y \geq 0,4 \times X \cdots (1),$

donde $X > 0$ y X es una distancia en la dirección de separación desde un extremo interior de la porción expuesta (151) expuesta sobre la superficie del medio de separación de muestras (150), hasta un extremo interior del medio que contiene muestra (160), e Y es una distancia por la cual el medio que contiene muestra (160) se empuja dentro del medio de separación de muestras (150) en una dirección perpendicular a la dirección de separación, en el que:

45 el aparato de electroforesis (100) comprende además un primer depósito de tampón (104) y un segundo depósito de tampón (105),

conteniendo el primer depósito de tampón (104) al menos parte de la porción expuesta (151),

estando ubicado el segundo depósito de tampón (105) de tal manera que la sección de separación de muestras (101) estará entre el segundo depósito de tampón (105) y la porción expuesta (151), y

teniendo la sección de separación de muestras (101) una abertura de comunicación (106) para la comunicación entre el medio de separación de muestras (150) y el segundo depósito de tampón (105).

16. Método de realización de electroforesis según la reivindicación 15, en el que:

5 el medio de separación de muestras tiene una sección de soporte cuya parte superior alcanza una altura igual a o mayor que el extremo interior de la porción expuesta (151), y

la región de conexión está sobre la sección de soporte.

FIG. 1

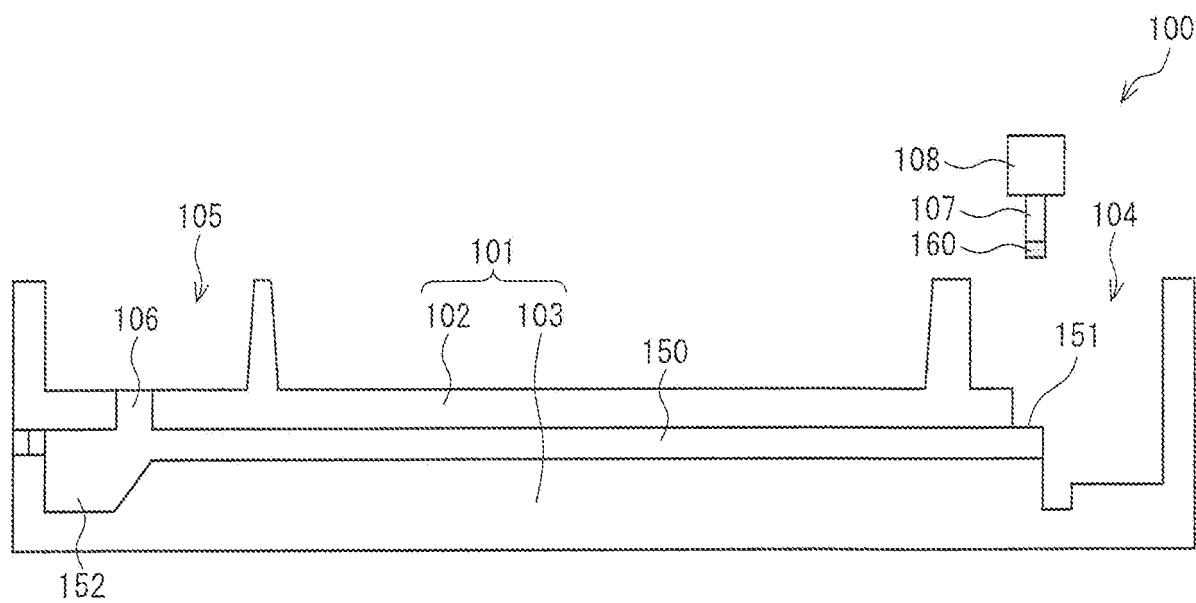


FIG. 2

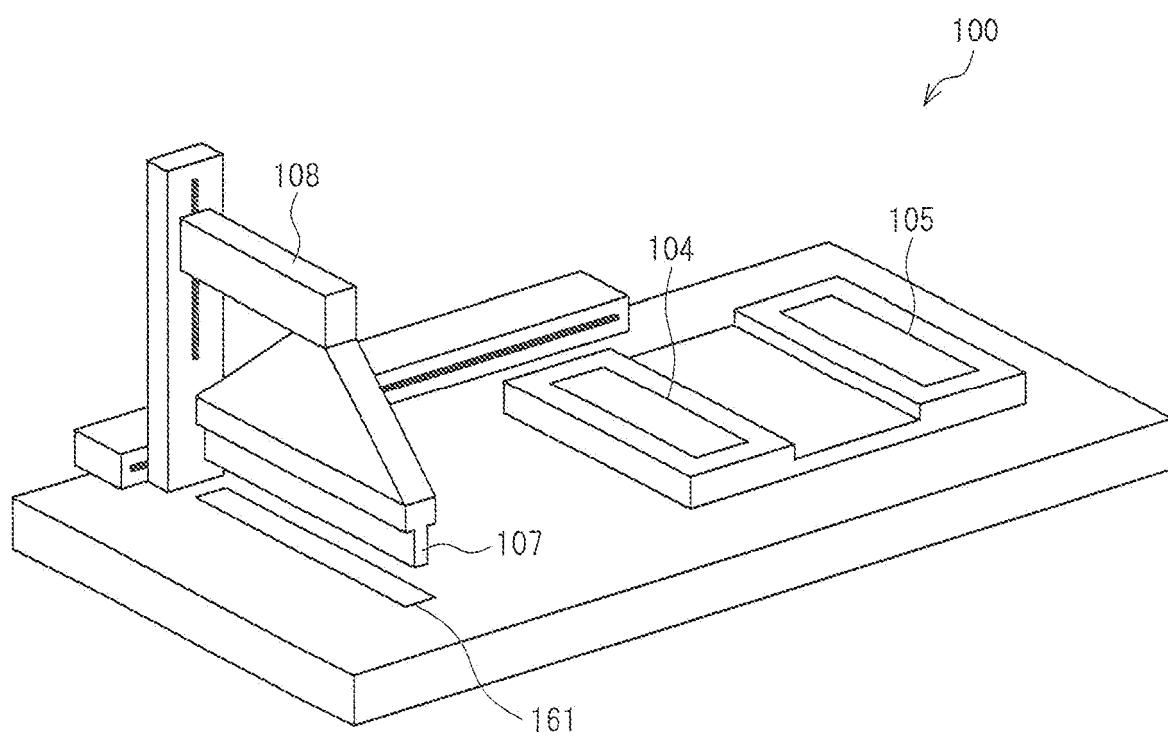


FIG. 3

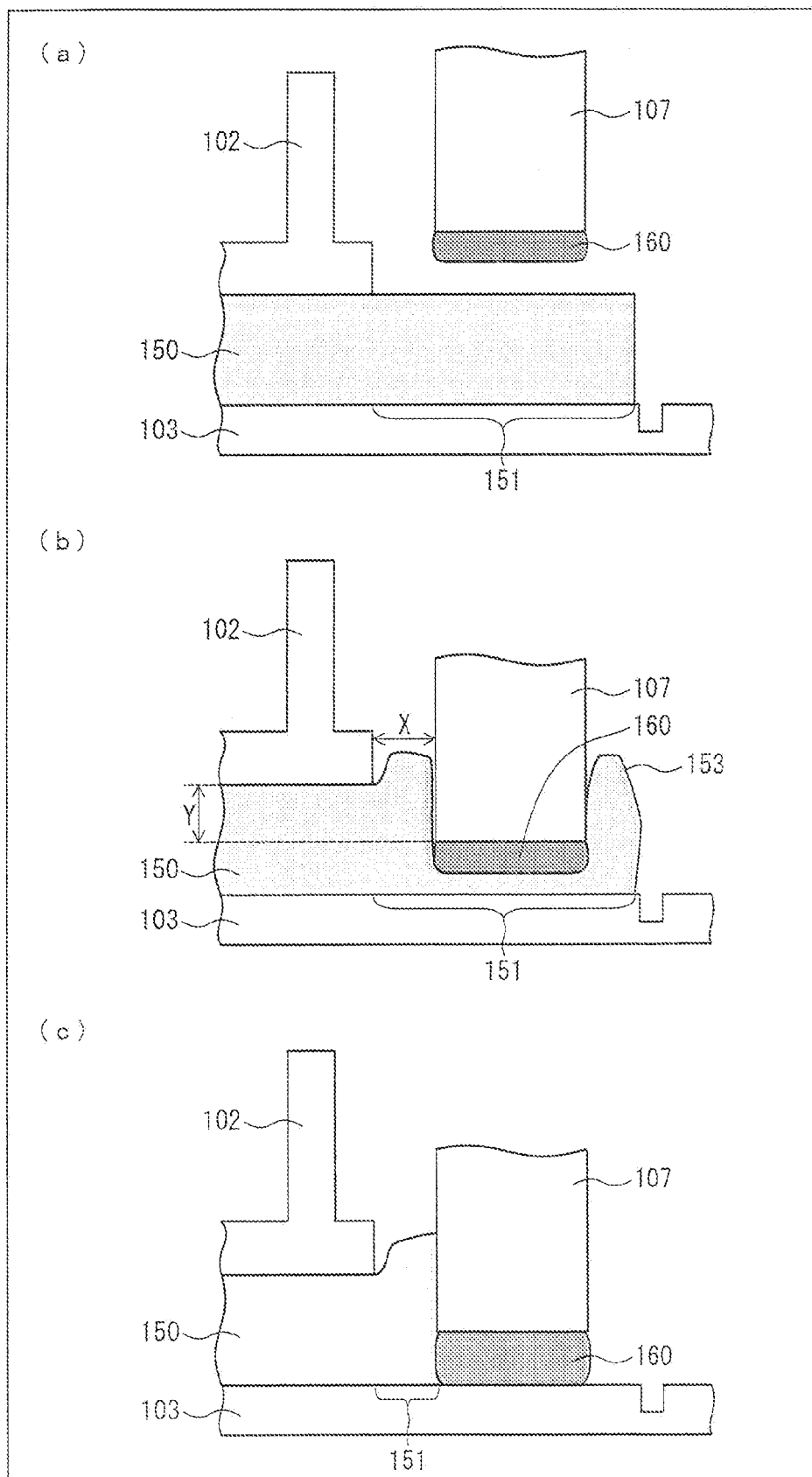


FIG. 4

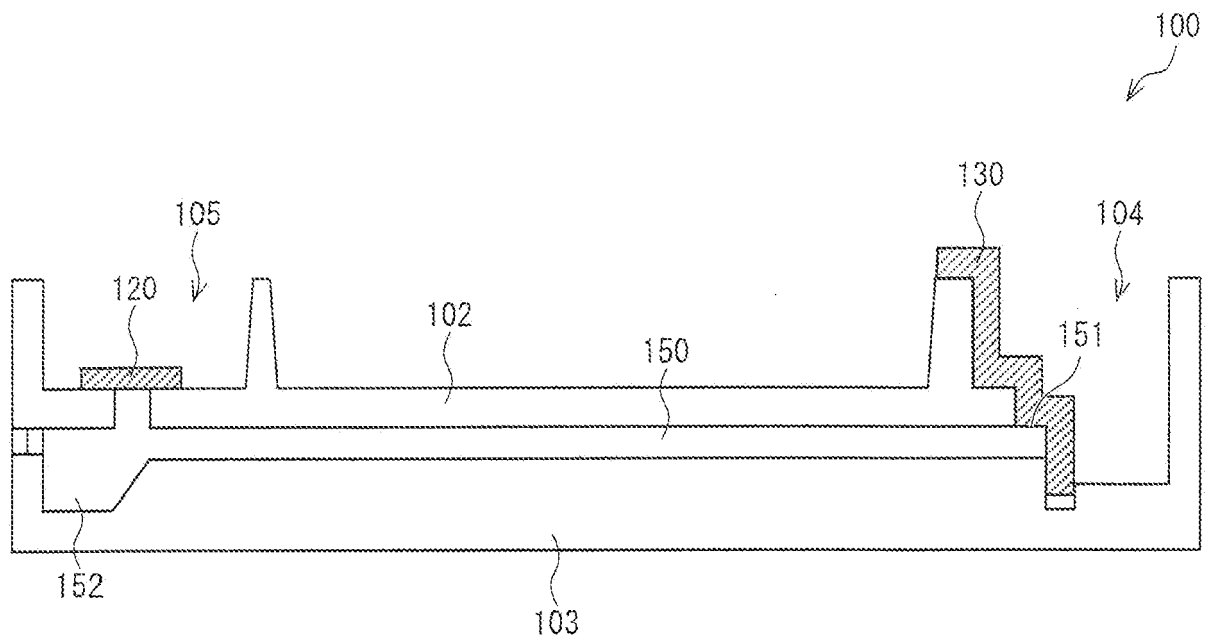


FIG. 5

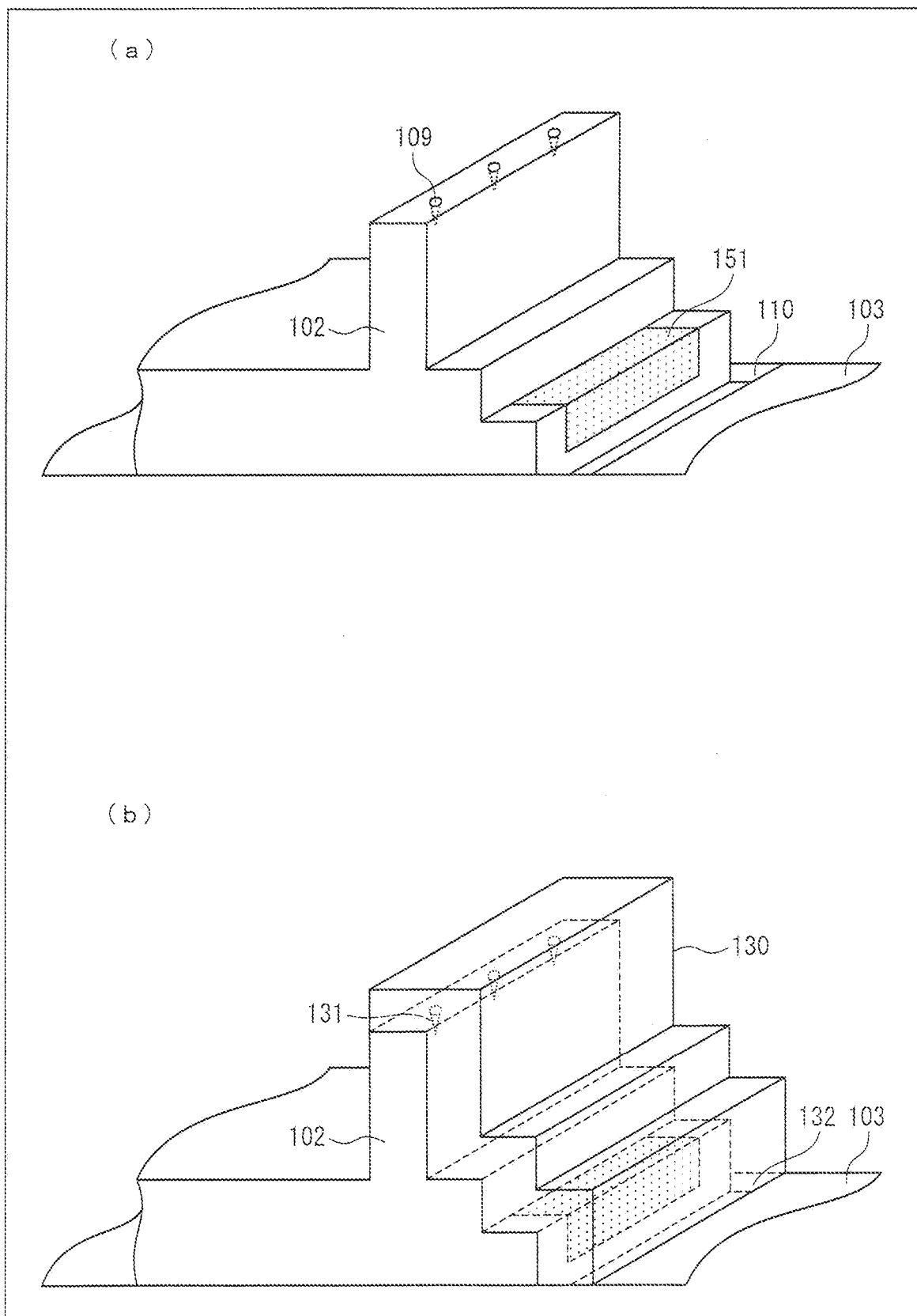


FIG. 6

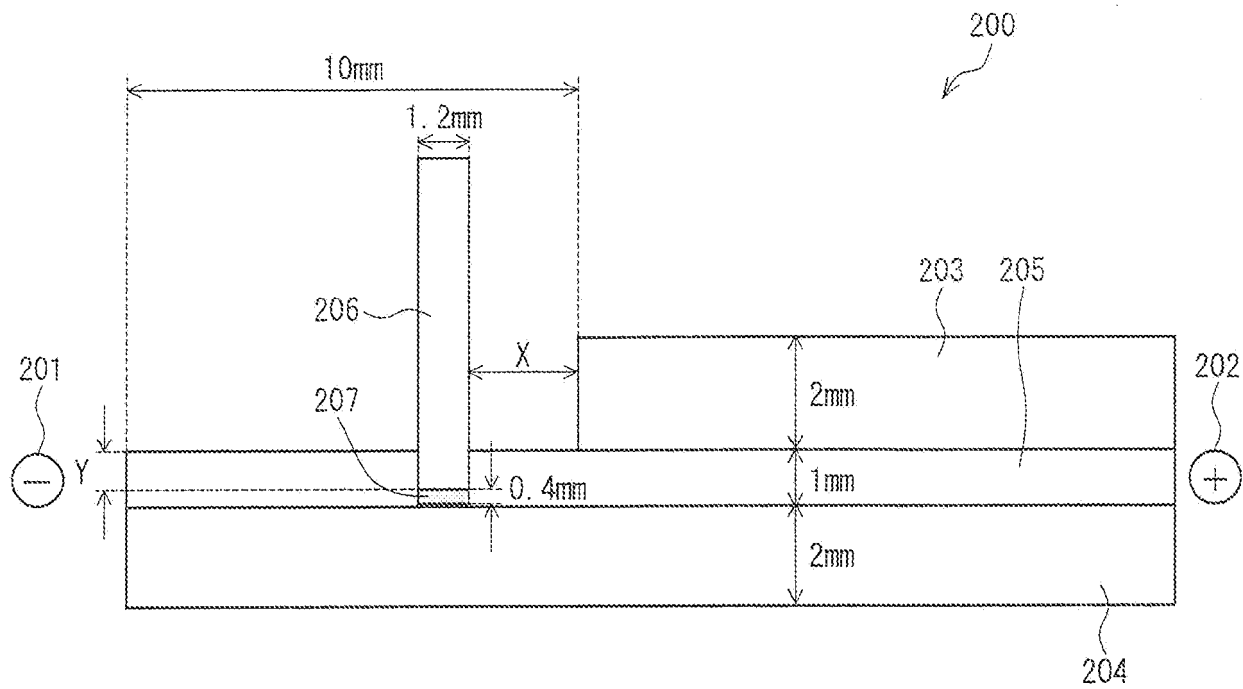


FIG. 7

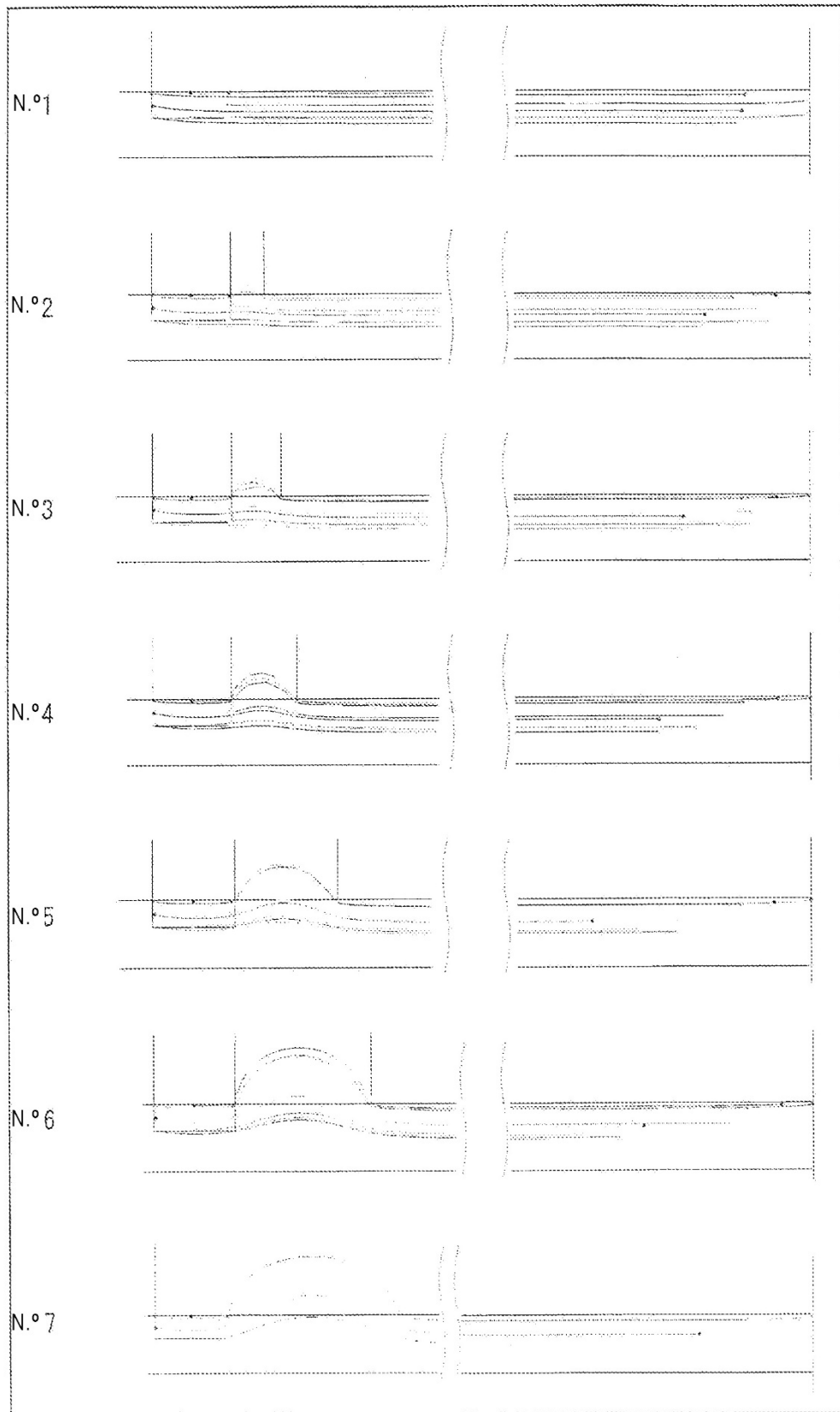


FIG. 8

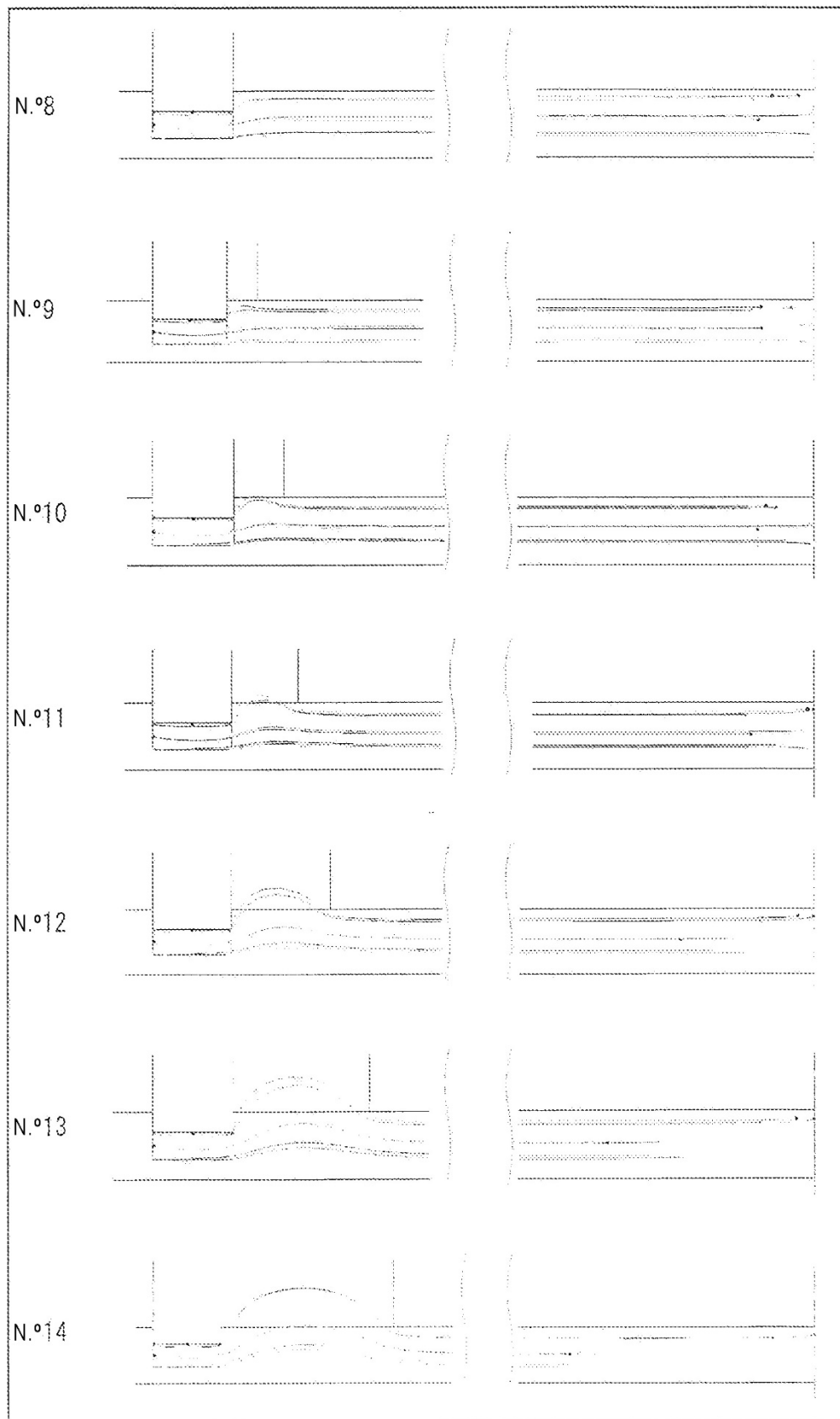


FIG. 9

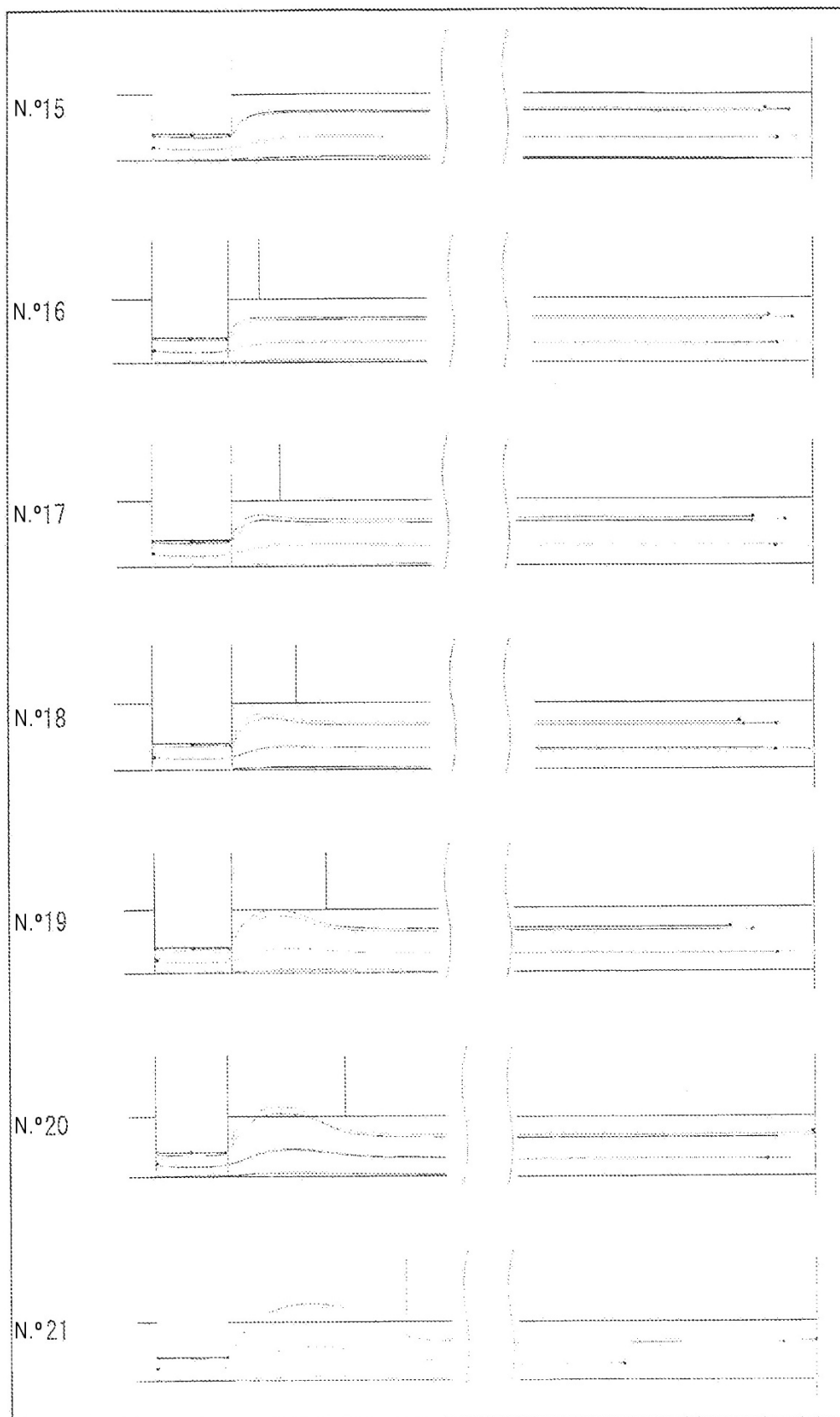


FIG. 10

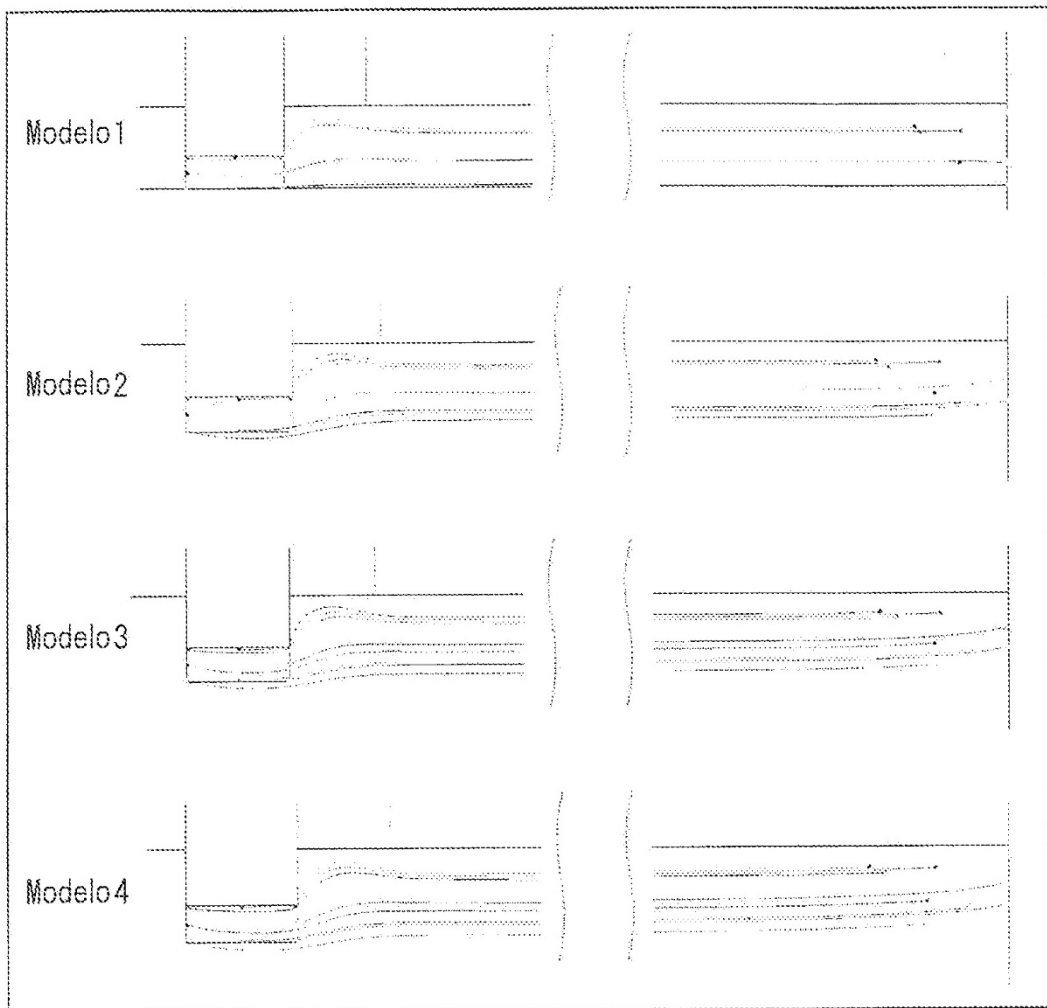


FIG. 11

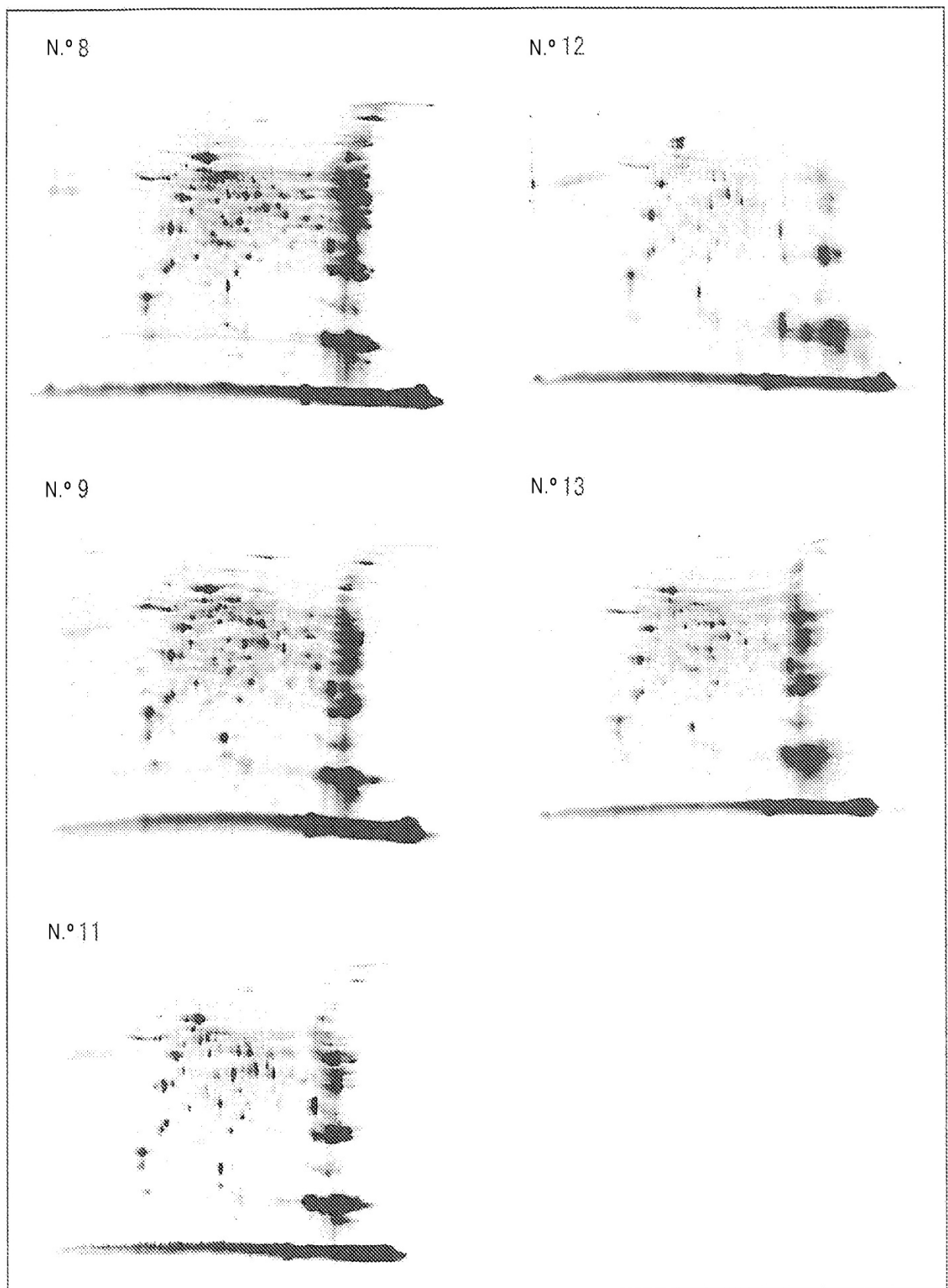


FIG. 12

