



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 305 661**

51 Int. Cl.:
G01N 27/447 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **04102122 .1**

86 Fecha de presentación : **26.04.1996**

87 Número de publicación de la solicitud: **1486783**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **15.12.2004**

54 Título: **Aparato y método para electroforesis.**

30 Prioridad: **26.04.1995 US 427917**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.11.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.11.2008

73 Titular/es: **Ethrog Biotechnology Ltd.**
39
Moshav Ganot 50293, IL

72 Inventor/es: **Cabilly, Shmuel y**
Yogev, Uri

74 Agente: **Arizti Acha, Mónica**

ES 2 305 661 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 y método para electroforesis.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere generalmente a la electroforesis y más particularmente a un aparato para realizar una prueba de electroforesis en el mismo.

10 **Antecedentes de la invención**

Se llevan a cabo una gran cantidad de procedimientos de diagnóstico e investigación de laboratorio en los que se separan ADN, ARN o proteínas según sus propiedades físicas y químicas mediante electroforesis. Este procedimiento se utiliza ampliamente y tiene muchas aplicaciones. Por ejemplo, se utiliza para analizar moléculas de ADN según su tamaño resultante tras digerirse por enzimas de restricción. También se utiliza para analizar los productos de una reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Normalmente, la separación por electroforesis se lleva a cabo en un medio de separación, tal como un gel de agarosa o acrilamida o una combinación de los dos. Habitualmente, los geles de agarosa se moldean en bandejas abiertas y forman un bloque, mientras que los geles de acrilamida se moldean entre dos placas de vidrio.

Con el fin de efectuar la separación electroforética, se exponen dos extremos opuestos de los geles a un tampón eléctricamente conductor que está conectado mediante electrodos, normalmente de carbono o platino, a una fuente de energía eléctrica. Una vez que está conectada la fuente de energía eléctrica, el campo eléctrico fuerza a las moléculas cargadas negativamente a moverse hacia el ánodo y a las moléculas cargadas positivamente a moverse hacia el cátodo. Una característica de la electroforesis convencional es el uso de grandes volúmenes de tampón que tiene una concentración salina relativamente baja para mantener el campo eléctrico requerido.

El ADN está cargado negativamente y, por tanto, en los geles de agarosa o acrilamida que proporcionan acción de tamizado, las moléculas de ADN se mueven hacia el ánodo a una velocidad que depende de su tamaño, en los que cuanto menores son las moléculas, más rápido se mueven.

Normalmente, es deseable visualizar y documentar los resultados de la prueba de separación electroforética. En la separación electroforética de moléculas de ADN, esto se ha realizado sumergiendo el bloque de gel después de que se ha completado la separación electroforética en una disolución de un compuesto fluorescente que emite luz visible cuando se expone a una luz ultravioleta (UV). Un compuesto ampliamente usado es el bromuro de etidio.

Los sistemas de separación electroforética convencionales son deficientes en muchos aspectos, algunos de los cuales se enumeran a continuación.

Los sistemas de separación por electroforesis de la técnica anterior constituyen una fuente potencial de contaminación para el entorno de trabajo en el que se realizan las pruebas. Las dos principales fuentes de contaminación son el bromuro de etidio y los productos de la PCR. El bromuro de etidio es un producto químico peligroso debido a su actividad mutagénica y por tanto, la exposición a bromuro de etidio puede inducir tumores malignos. La PCR es un método extremadamente sensible hasta el punto de que una única molécula de producto de ADN de una PCR (de los billones de moléculas que se están produciendo) puede interferir con la posterior PCR de manera que producirá un resultado incorrecto.

La electroforesis convencional también es deficiente en otros aspectos, siendo uno que lleva mucho tiempo.

Se han realizado diversos intentos por resolver las deficiencias de la electroforesis convencional. La mayor parte de los intentos se han dirigido a superar la deficiencia de los sistemas de electroforesis convencionales con respecto al uso de tampones en los mismos.

La patente estadounidense 4.874.491 concedida a Stalberg describe un sistema de electroforesis que tiene un gel que contiene tampón a alta concentración.

La patente estadounidense 4.892.639 concedida a Sarrine *et al* describe una placa de electroforesis con circulación de tapón mejorada.

La patente estadounidense 5.045.164 concedida a Tansamrit *et al* describe una placa de electroforesis que tiene extremos engrosados como depósitos de tampón.

La patente estadounidense 5.209.831 concedida a MacConnel describe un casete desechable sin tampón que tiene extremos abiertos y electrodos de película conductores.

La patente estadounidense 5.407.552 concedida a Lebacq describe un dispositivo de electroforesis que tiene un cartucho de una única pieza preparado a partir de una sección de una forma hueca que tiene dos lados abiertos opuestos,

uno de los cuales está sellado mediante un elemento de peine extraíble mientras que el otro está sellado mediante una cubierta extraíble.

Sumario de la invención

Por tanto, es un objeto de la presente invención proporcionar un aparato mejorado para electroforesis.

Un objeto principal de la presente invención es proporcionar un casete cerrado para electroforesis que está sustancialmente cerrado antes, durante y después de una prueba de electroforesis realizada en el mismo.

El casete de la presente invención supera los inconvenientes asociados con los casetes, placas o bloques de electroforesis de la técnica anterior. Dado que el casete es uno cerrado, su entorno externo no es propenso a la contaminación. Además, dado que es fácil de usar, se ahorra el tiempo de preparación requerido para preparar los casetes de la técnica anterior.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar un sistema de electroforesis en el que se realiza tanto la separación electroforética como la visualización de los resultados de la misma mientras que el casete está *in situ*.

Según un primer aspecto, la presente invención proporciona un casete sustancialmente cerrado para realizar electroforesis en el mismo, comprendiendo el casete: un alojamiento que tiene al menos paredes de fondo y laterales que definen una cámara, en el que dicha cámara comprende, en contacto entre sí: un cuerpo de gel de separación para llevar a cabo en el mismo dicha electroforesis que comprende uno o más pocillos; al menos una fuente de iones que tiene un volumen inferior al volumen de dicho cuerpo de gel de separación, y electrodos para conectar dicha cámara a una fuente de energía eléctrica externa, para permitir impulsar dicha electroforesis; y una cubierta que cierra dicha cámara para proporcionar el casete sustancialmente cerrado, en el que dicha cubierta o dicha cámara comprende al menos una abertura sobre dicho uno o más pocillos.

Según un segundo aspecto, la presente invención proporciona un método de electroforesis que comprende las etapas de: introducir una muestra de prueba en un cuerpo de gel de separación a través de al menos una abertura en una cubierta de un casete sustancialmente cerrado, comprendiendo el casete dicho cuerpo de gel de separación y al menos una fuente de iones que tiene un volumen inferior al volumen de dicho cuerpo de gel de separación; aplicar un campo eléctrico a dicho gel; e impulsar la electroforesis proporcionando los iones requeridos para impulsar dicha electroforesis mediante la al menos una fuente de iones dentro de dicho casete sustancialmente cerrado.

Según un tercer aspecto, la presente invención proporciona un sistema de electroforesis que comprende: un casete de la invención; y un apoyo para dicho casete en el que dicho apoyo comprende puntos de contacto para dichos electrodos.

En la invención se incluye un casete desechable sustancialmente cerrado con aberturas para introducir una muestra de moléculas en el mismo, abriéndose las aberturas preferiblemente sólo justo antes de la prueba de electroforesis.

En la invención se incluye un casete que incluye todos los compuestos químicos requeridos para impulsar la separación electroforética y, cuando se separan las moléculas de ADN, los compuestos requeridos para teñir el ADN separado.

Según una realización de la invención, el volumen de la fuente de iones utilizada para proporcionar los iones requeridos para la separación por electroforesis es inferior al volumen del gel utilizado como la matriz de separación por electroforesis y preferiblemente inferior al volumen de gel utilizado para la separación real durante una prueba de electroforesis.

Según una realización preferida de la presente invención, los iones (cationes y aniones) requeridos para impulsar la separación electroforética se proporcionan mediante una matriz de intercambio catiónico y una matriz de intercambio aniónico, respectivamente.

Según otra realización preferida de la presente invención, la matriz de intercambio catiónico también proporciona los cationes requeridos para teñir las moléculas separadas con el fin de permitir la visualización de las mismas cuando el casete se ilumina con una fuente de luz UV.

Según una realización alternativa de la presente invención los iones requeridos para impulsar la separación por electroforesis se proporcionan mediante un depósito, preferiblemente una ampolla rompible que contiene un tampón caracterizado por una concentración relativamente alta de estos iones.

Una ventaja del casete de la presente invención es que es desechable.

Otra ventaja del casete de la presente invención es que el usuario no se expone a ningún constituyente químico peligroso, tal como el bromuro de etidio, como en los casetes de la técnica anterior.

Aún otra ventaja del casete de la presente invención es que los productos de ADN de la PCR están contenidos dentro del casete y se disponen dentro del mismo de manera que se reduce sustancialmente la contaminación del entorno de trabajo en el que se realizan las pruebas.

5 Por tanto, se proporciona, según una realización preferida de la presente invención, un aparato para realizar la separación por electroforesis en el mismo incluye un alojamiento que tiene al menos paredes de fondo y laterales que definen una cámara, en el que la cámara incluye en contacto entre sí un cuerpo de gel para llevar a cabo en el mismo la separación por electroforesis, al menos una fuente de iones para proporcionar iones para impulsar la electroforesis, teniendo la al menos una fuente de iones un volumen inferior al volumen del cuerpo de gel, y electrodos para conectar
10 la cámara a una fuente de energía eléctrica externa, permitiendo de ese modo impulsar la separación por electroforesis.

También se proporciona, según una realización preferida de la presente invención un casete sustancialmente cerrado para realizar en el mismo la separación por electroforesis que incluye una cámara cerrada que incluye en la misma un cuerpo de gel para llevar a cabo en el mismo la separación por electroforesis, al menos una fuente de iones para
15 proporcionar iones para impulsar la separación por electroforesis, y electrodos para conectar el casete a una fuente de energía eléctrica externa, permitiendo de ese modo impulsar la separación por electroforesis.

Se proporciona además, según una realización preferida de la presente invención un aparato para realizar la separación por electroforesis en el mismo que incluye un alojamiento que tiene al menos paredes de fondo y laterales que definen una cámara que incluye en contacto entre sí un cuerpo de gel para llevar a cabo en el mismo dicha separación por electroforesis, al menos un cuerpo de matriz de intercambio iónico para proporcionar iones para impulsar la separación por electroforesis, y electrodos para conectar la cámara a una fuente de energía eléctrica externa, permitiendo
20 de ese modo impulsar la separación por electroforesis.

Según una realización preferida, el volumen de la al menos una fuente de iones es inferior al volumen del cuerpo de gel utilizado en la separación por electroforesis.

En una realización preferida, la al menos una fuente de iones incluye un cuerpo de matriz de intercambio iónico. Además, el cuerpo de matriz de intercambio iónico incluye un cuerpo de matriz de intercambio catiónico para proporcionar los cationes para impulsar la separación por electroforesis y un cuerpo de matriz de intercambio aniónico para proporcionar los aniones para impulsar la separación por electroforesis. Todavía adicionalmente, la matriz de intercambio catiónico está dispuesta en un extremo del cuerpo de gel de separación y el cuerpo de matriz de intercambio aniónico está dispuesto en un segundo extremo del gel de separación.
30

En funcionamiento, la matriz de intercambio catiónico intercambia protones derivados de la electrolisis con los cationes para impulsar la separación electroforética y la matriz de intercambio aniónico intercambia iones hidroxilo derivados de la electrolisis con los aniones para impulsar la separación electroforética.
35

Según una realización preferida de la presente invención, la matriz de intercambio catiónico y la matriz de intercambio aniónico incluye partículas sumergidas en una matriz de soporte. Preferiblemente, la matriz de soporte está formada por el gel como el cuerpo de gel para llevar a cabo la separación por electroforesis en la misma.
40

Según aún otra realización de la presente invención, el aparato también incluye un cuerpo de gel adicional de baja resistencia de gel dispuesto entre la pared lateral de la cámara y la matriz de intercambio aniónico, contrayéndose el cuerpo de gel de baja resistencia de gel durante la separación por electroforesis, proporcionando de ese modo un volumen en el que se acumulan los gases producidos en las proximidades de un ánodo de la cámara.
45

Además, según una realización preferida de la presente invención, el aparato incluye una disolución tampón en contacto con el cuerpo de gel de separación, el al menos un cuerpo de matriz de intercambio iónico y los electrodos. Preferiblemente, el tampón es un tampón TAE, por lo que la matriz de intercambio catiónico libera cationes Tris y la matriz de intercambio aniónico libera aniones acetato.
50

Adicionalmente, según una realización preferida de la presente invención, la matriz de intercambio catiónico incluye cationes etidio.
55

Según una realización alternativa de la presente invención, la al menos una fuente de iones incluye un depósito cerrado que tiene en el mismo una disolución tampón que tiene una concentración superior a la concentración de una disolución tampón del cuerpo de gel para llevar a cabo en el mismo la separación por electroforesis, abriéndose el depósito cerrado justo antes de la separación por electroforesis para proporcionar los iones para impulsar la separación por electroforesis.
60

En una realización preferida, el depósito cerrado es una ampolla rompible. Además, la ampolla rompible puede estar rodeada por un espacio, estando el espacio al menos parcialmente lleno con la disolución tampón en una concentración generalmente similar a la del cuerpo de gel para llevar a cabo en el mismo la separación por electroforesis. Preferiblemente, el tampón es un tampón TAE. Además, el tampón también puede incluir cationes etidio.
65

El aparato y el casete de la presente invención se caracterizan además por cualquier combinación de las características siguientes:

ES 2 305 661 T3

La cámara o la cubierta pueden incluir al menos una abertura en las mismas para introducir al menos una muestra de prueba en el cuerpo de gel. Preferiblemente, la al menos una abertura está cerrada mediante un peine antes de la separación por electroforesis.

5 La cámara y/o la cubierta pueden ser transparentes a la radiación ultravioleta (UV).

La cámara o la cubierta también pueden incluir al menos un orificio de escape que está cerrado antes de la prueba de electroforesis y que se abre justo antes de la prueba de electroforesis.

10 Además, según una realización preferida de la presente invención, los electrodos incluyen un material conductor que puede adsorber al menos parte de al menos uno de los gases producidos durante la separación por electroforesis. Preferiblemente, el al menos un electrodo que puede adsorber está formado sustancialmente por un material seleccionado del grupo que consiste en aluminio y paladio.

15 Adicionalmente, los gases incluyen el oxígeno creado en las proximidades del ánodo durante la separación por electroforesis y que reacciona con el aluminio. Alternativamente, los gases incluyen el hidrógeno creado en las proximidades del cátodo durante la separación por electroforesis y en el que el hidrógeno se adsorbe por el paladio.

20 En una realización alternativa, el al menos un electrodo incluye una tira de material conductor. Preferiblemente, la tira de material conductor está montada sobre una rampa, estando la rampa inclinada con un ángulo con respecto a la pared de fondo, por lo que los gases producidos en las proximidades de la tira durante la separación por electroforesis se están dirigiendo hacia un volumen vacío que recibe los gases.

25 Finalmente, el aparato o el casete también pueden incluir al menos un volumen vacío para acumular los gases producidos durante la prueba de electroforesis.

30 También se proporciona, según una realización preferida de la presente invención un sistema para realizar la separación por electroforesis que incluye una fuente de energía eléctrica, un casete desechable sustancialmente cerrado, preferiblemente pero no necesariamente el aparato o el casete de la presente invención, y un soporte para soportar el casete sustancialmente cerrado y para conectar la fuente de energía eléctrica a los elementos conductores del casete.

35 Además, el sistema también puede incluir una fuente de luz UV y en el que el casete es transparente a la luz UV, y en el que el casete también incluye un material sensible a UV que puede interactuar con las moléculas sometidas a separación por electroforesis y de luz de emisión, permitiendo de ese modo realizar la separación por electroforesis y visualizarla mientras que el casete está *in situ*. En una realización preferida, el material sensible a UV es bromuro de etidio.

40 Todavía además, el sistema también puede incluir medios de cámara para documentar los resultados de la separación por electroforesis. El sistema también puede incluir un ordenador que incluye al menos una aplicación de análisis de imágenes para analizar los resultados de la separación por electroforesis.

Adicionalmente, el sistema puede incluir un sistema de enfriamiento para enfriar el casete durante la prueba de electroforesis.

45 También se proporciona, según una realización preferida de la presente invención, un método de electroforesis que incluye las etapas de introducir al menos una muestra de prueba en un cuerpo de gel, aplicar un campo eléctrico al cuerpo de gel e impulsar una separación por electroforesis proporcionando los iones requeridos para impulsar la separación por electroforesis mediante al menos una fuente de iones que tiene un volumen inferior al volumen del gel.

50 Finalmente, también se proporciona, según una realización preferida de la presente invención, un método para producir un casete sustancialmente cerrado para realizar la separación por electroforesis en el mismo que incluye las etapas de proporcionar un alojamiento que tiene paredes de fondo y laterales que definen una cámara abierta, montar dentro de la cámara en contacto entre sí un cuerpo de gel para llevar a cabo en el mismo la separación por electroforesis, al menos una fuente de iones para proporcionar iones para impulsar la separación por electroforesis, 55 teniendo la al menos una fuente de iones un volumen inferior al del cuerpo de gel y electrodos para conectar la cámara a una fuente de energía eléctrica externa, y cerrar el alojamiento abierto con una cubierta, formando de ese modo un casete sustancialmente cerrado que puede llevar a cabo la separación por electroforesis en el mismo.

Breve descripción de los dibujos

60 La presente invención se entenderá y se apreciará más completamente a partir de la siguiente descripción detallada tomada junto con los dibujos adjuntos en los que:

65 la figura 1 es una ilustración isométrica esquemática de un casete de electroforesis, construido y operativo según una realización preferida de la presente invención;

la figura 2 es una ilustración en sección transversal esquemática a lo largo de las líneas II - II en la figura 1;

la figura 3 es una ilustración en despiece ordenado isométrica esquemática del casete de electroforesis de la figura 1;

la figura 4 es una ilustración en sección transversal esquemática a lo largo de las líneas IV - IV en la figura 3;

la figura 5 es una ilustración en despiece ordenado isométrica esquemática de un casete de electroforesis, construido y operativo según una segunda realización preferida de la presente invención;

la figura 6 es una ilustración en sección transversal esquemática a lo largo de las líneas VI - VI en la figura 5;

la figura 7 es una ilustración isométrica esquemática de un casete de electroforesis, construido y operativo según una tercera realización preferida de la presente invención;

la figura 8 es una ilustración en despiece ordenado isométrica esquemática del casete de electroforesis de la figura 7;

la figura 9 es una ilustración en sección transversal esquemática a lo largo de las líneas IX - IX en la figura 7;

la figura 10 es una ilustración en sección transversal esquemática a lo largo de las líneas X - X en la figura 7.

la figura 11 es una ilustración en sección transversal esquemática a lo largo de las líneas XI - XI en la figura 7.

la figura 12 es una ilustración isométrica esquemática de un casete de electroforesis, construido y operativo según una cuarta realización preferida de la presente invención;

la figura 13 es una ilustración isométrica esquemática de un corte transversal que deja ver el interior de arriba a abajo del casete de electroforesis de la figura 12;

la figura 14 es una ilustración en despiece ordenado isométrica esquemática del casete de electroforesis de la figura 12;

la figura 15 es una ilustración en sección transversal esquemática a lo largo de las líneas XV - XV en la figura 14;

la figura 16 es una ilustración isométrica esquemática de un sistema para electroforesis, construido y operativo según una realización preferida de la presente invención.

Descripción detallada de la presente invención

Ahora se hace referencia a las figuras 1 - 4 que ilustran un casete desechable de electroforesis, generalmente con número de referencia 10, construido y operativo según una realización preferida de la presente invención.

El casete 10, tal como se observa mejor en la figura 1, es un casete desechable cerrado usado preferiblemente, pero no necesariamente, para una única prueba de electroforesis. El casete 10 incluye todos los compuestos químicos requeridos para impulsar la separación por electroforesis y para permitir la visualización de sus resultados cuando se han separado moléculas de ADN así como de ARN o de proteína.

Tal como se observa mejor en la figura 3, el casete 10 comprende preferiblemente una cámara 11 tridimensional que preferiblemente es sustancialmente plana, que tiene una pared de fondo y paredes laterales, con los números de referencia 12 y 14 respectivamente, y una cubierta 16 que forma la pared superior del casete. La pared 12 de fondo (figura 4) y la cubierta 16 están hechas preferiblemente de cualquier material transparente a UV adecuado, tal como tal como el plástico TPX disponible comercialmente de MITSUI de Japón o el plástico PMMA disponible comercialmente de Repsol Polivar S.P.A. de Roma. En un método preferido para producir el casete 10, se emplea un proceso de moldeo de plástico utilizando un polvo de moldeo Rohaglas disponible comercialmente de Sidas GmbH de Damstadt, Alemania.

Tal como se observa mejor en la ilustración en sección transversal de la figura 4, la cámara 11 preferiblemente comprende una matriz 18 de gel que puede ser cualquier matriz de gel adecuada para electroforesis, tal como un gel de agarosa o un gel preparado de acrilamida, una matriz 20 de intercambio catiónico y una matriz 22 de intercambio aniónico, denominadas colectivamente las matrices 20 y 22 de intercambio iónico. La cámara 11 comprende además dos varillas conductoras con los números de referencia 24 y 26, tales como varillas de acero inoxidable que, cuando se conectan a una fuente de energía eléctrica de corriente continua (CC) externa, proporcionan el campo eléctrico requerido para impulsar la separación electroforética. En la realización ilustrada, la varilla 24 es el ánodo y la varilla 26 es el cátodo. La cámara 11 comprende además dos volúmenes 28 y 30 vacíos, en los que pueden acumularse los gases producidos durante la prueba de electroforesis. Alternativamente, la cubierta 16 abierta puede incluir dos orificios 32 y 34 de escape, mostrados sólo en la figura 3, para dejar escapar los gases acumulados en los volúmenes 28 y 30 vacíos.

ES 2 305 661 T3

Una característica particular del casete 10, tal como se muestra mejor en las figuras 3 y 4 es que el volumen de la fuente de iones, las matrices 20 y 22 de intercambio iónico en la realización ilustrada, es inferior al volumen del gel 18 utilizado como la matriz de separación por electroforesis y preferiblemente inferior al volumen de gel utilizado para la separación real durante una prueba de electroforesis.

Se apreciará que si el casete 10 incluye los orificios 32 y 34 de escape, éstos se sellan antes del comienzo de la prueba electroforética y se abren justo antes de que comience la prueba de electroforesis y se cierran de nuevo después de completarse la prueba para reducir sustancialmente la posibilidad de contaminación originada a partir de la misma.

Preferiblemente, cada uno del gel 18, la matrices 20 y 22 de intercambio iónico y las varillas 24 y 26 conductoras están en contacto y están sumergidas en una cantidad relativamente pequeña de una matriz de agarosa producida y que incluye una disolución tampón, tal como un tampón TAE, que facilita la movilidad de las moléculas que se someten a separación y de los iones proporcionados por las matrices 20 y 22 de intercambio iónico.

Es una característica particular de la presente invención que los iones requeridos para impulsar la separación electroforética se proporcionan mediante las matrices 20 y 22 de intercambio iónico, preferiblemente, mediante el intercambio con protones e iones hidroxilo derivados de la electrolisis del H_2O . En funcionamiento, se aplica una corriente CC mediante las varillas 24 y 26 para iniciar la electrolisis que, a su vez, inicia el funcionamiento de las matrices de intercambio iónico.

La matriz 20 de intercambio catiónico y la matriz 22 de intercambio aniónico liberan los cationes y los aniones requeridos para impulsar la separación por electroforesis. Un ejemplo de un catión adecuado es el catión $Tris^{+}$ y un ejemplo de un anión adecuado es el acetato ($^{-}$). Preferiblemente, pero no necesariamente, los iones liberados por las matrices 20 y 22 de intercambio iónico se intercambian con los aniones hidroxilo y los protones adsorbidos, respectivamente. Alternativamente, o además de esto, los iones adsorbidos por las matrices 20 y 22 de intercambio iónico también pueden proporcionarse por las varillas 24 y 26.

Se apreciará que el uso de las matrices 20 y 22 de intercambio iónico proporciona un pH generalmente uniforme en toda la célula puesto que cualquier acumulación de protones cerca del ánodo 24 está compensada por la absorción del mismo por la matriz 20 de intercambio catiónico vecina y la acumulación de hidroxilo cerca del cátodo 26 está compensada por la absorción del mismo por la matriz 22 de intercambio aniónico.

Según una realización preferida de la presente invención, la matriz 20 de intercambio catiónico y la matriz 22 de intercambio aniónico pueden estar sumergidas en uno de los materiales utilizados para preparar el gel.

Un material de intercambio catiónico adecuado es el Sephadex CM-25-120 y materiales de intercambio aniónico adecuados son WA-30 y A-25-120, que están todos ellos disponibles comercialmente de Sigma Inc. de St. Louis, EE.UU.

El casete 10 preferiblemente incluye también pocillos 36 en el gel 18. Los pocillos 36 se usan para introducir muestras de las moléculas que han de someterse a separación electroforética. Los pocillos 36 pueden formarse mediante cualquier método adecuado, tal como introduciendo una estructura 40 de tipo peine (figura 2) en el gel durante el montaje del gel. Se introduce el peine 40 en el gel mediante aberturas 38 correspondientes (figura 1) en la cubierta 16. Las aberturas 38 pueden usarse como un espacio adicional para cargar las muestras moleculares justo antes del inicio de la prueba de electroforesis tras retirar el peine 40.

Según una realización preferida de la presente invención, tal como se observa mejor a partir de la figura 2, se cubren los pocillos 36 mediante el peine 40 usado en su preparación. Esto es puesto que el método de peine implica la inserción de una estructura de peine en el gel mediante las aberturas 38 en la cubierta 16 superior, sacándose el peine sólo justo antes de la prueba de electroforesis.

Es una característica particular de la presente invención que el casete 10 es un casete cerrado cubierto por el peine 40 que se retira justo antes de la prueba de electroforesis en sí.

El casete 10 incluye también una fuente de cationes etidio que se usan para la visualización ultravioleta (UV) de las moléculas de ADN separadas. A diferencia de los sistemas de electroforesis de la técnica anterior, en los que se introduce bromuro de etidio tras la separación de las moléculas, normalmente sumergiendo el gel en una disolución de bromuro de etidio, el casete 10 incluye una fuente interna de fuente de iones etidio. Preferiblemente, la matriz 20 de intercambio catiónico no sólo libera cationes TRIS sino también cationes etidio que interaccionan con las moléculas que experimentan la separación electroforética.

En una realización preferida, la matriz 20 de intercambio catiónico proporciona un flujo continuo de cationes etidio durante la prueba de electroforesis para teñir las moléculas de ADN para permitir su visualización y análisis, *in situ*, utilizando un sistema de electroforesis adecuado, tal como el sistema descrito con referencia a la figura 16 más adelante en el presente documento.

ES 2 305 661 T3

Los siguientes ejemplos, que no están destinados a limitar el alcance de la presente invención, ilustran cómo se preparan la matriz 20 de intercambio catiónico y la matriz 22 de intercambio aniónico. El siguiente ejemplo es para un casete cuya longitud, anchura y altura exteriores son 100 milímetros (mm), 80 mm y 6 mm, respectivamente. Se apreciará que un casete de estas dimensiones exteriores es sustancialmente plano.

5

Ejemplo 1

Se preparó la matriz 20 de intercambio catiónico tal como sigue:

10

A. Se lavaron aproximadamente 5 gramos de partículas de Sephadex CM-25-120 usando tres volúmenes de disolución TAE en una concentración 50 veces superior a la concentración del tampón TAE usado durante la prueba de electroforesis (en el presente documento, disolución TAE X50). En este ejemplo, la concentración usada en la prueba de electroforesis en sí fue 0,04 molar de Tris acetato con EDTA 0,002 molar.

15

B. Se lavaron las partículas de Sephadex CM-25-120 con agua destilada.

C. Se mezclaron dos gramos de las partículas de Sephadex CM-25-120 lavadas con 50 ml de 0,5 X tampón TAE y 5 microlitros de bromuro de etidio.

20

D. Se dejó la mezcla sin agitación durante una hora para dejar que sedimentaran las partículas de CM-25-120.

E. Se filtraron 25 ml de la mezcla para obtener una disolución de 25 ml que incluía los 2 gramos de partículas de Sephadex CM-25-120.

25

F. Se sumergió la mezcla de 25 ml obtenida que incluía las partículas de Sephadex CM-25-120 en un gel de agarosa al 4 por ciento para obtener la matriz 20 de intercambio catiónico.

Se prepara la matriz 22 de intercambio aniónico tal como sigue:

30

A. Se lavaron aproximadamente 3 gramos de partículas WA - 30 usando tres volúmenes de la disolución 50X usada para lavar las partículas de intercambio catiónico.

B. Se lavaron las partículas WA - 30 con agua destilada.

35

C. Se sumergió un gramo de las partículas WA - 30 en un gel de agarosa al 4 por ciento para obtener la matriz 22 de intercambio aniónico.

40 Ejemplo 2

Se prepara la matriz 20 de intercambio catiónico tal como sigue:

45

A. Se colocaron 20 gramos de partículas de Sephadex CM-25-120 hinchadas en una columna convencional y se lavaron con 500 ml de disolución TAE 1,2 molar, que tiene un pH de 9,3 tal como se ajusta con HCl.

B. Se lavaron las partículas de Sephadex CM-25-120 con 7 volúmenes de agua destilada.

C. Se retiraron las partículas de Sephadex CM-25-120 de la columna y se mantuvieron en dos volúmenes de 0,6 X tampón TAE.

50

D. Se adsorbió 1 ml de partículas de Sephadex CM-25-120 hinchadas con bromuro de etidio hasta saturación y se eliminaron por lavado los iones bromuro.

55

E. Se sumergieron 1,2 ml de las partículas CM-25-120 mantenidas en el tampón TAE (etapa C) y 3 microlitros de las partículas adsorbidas con etidio (etapa D) con 1,5 ml de gel de agarosa al 2% que forma la matriz de agarosa para obtener la matriz 20 de intercambio catiónico para el casete 10.

Se preparó la matriz 22 de intercambio aniónico tal como sigue:

60

A. Se colocaron 25 gramos de DEAE - partículas de Sephadex A-25-120 en una columna convencional y se lavaron con 500 ml de disolución de acetato de sodio 1 molar de pH 7 ajustado con ácido acético.

B. Se lavaron las partículas A-25-120 con 7 volúmenes de agua destilada.

65

C. Se retiraron las partículas de Sephadex A-25-120 de la columna y se mantuvieron en dos volúmenes de 0,6 X tampón TAE.

ES 2 305 661 T3

D. Se sumergieron 1,2 ml de las partículas A-25-120 adsorbidas con iones acetato (etapa C) con 1,5 ml de gel de agarosa al 2% que forma la matriz de agarosa para obtener la matriz 22 de intercambio aniónico para el casete 10.

5 Ahora se hace referencia a las figuras 5 y 6 que ilustran un casete de electroforesis, generalmente con el número de referencia 25, construido y operativo según una segunda realización preferida de la presente invención.

Generalmente, la construcción y el funcionamiento del casete 25 son similares a los del casete 10 (figuras 1 - 4), es decir es un casete desechable cerrado usado preferiblemente para una única prueba de electroforesis que comprende un gel 18 y matrices 20 y 22 de intercambio iónico. Por tanto, elementos similares de los casetes 10 y 25 tienen como referencia números de referencia similares (por ejemplo, peine 40).

La cámara 60 comprende, de manera similar a la cámara 11, una matriz 18 de gel y matrices 20 y 22 de intercambio iónico. Sin embargo, la cámara 60 se diferencia de la cámara 11 en la construcción y el funcionamiento con respecto al ánodo y el cátodo y la acumulación de gas y el mecanismo de escape.

La cámara 60 comprende dos tiras 21 y 23 conductoras que forman el cátodo y el ánodo, respectivamente. El cátodo 21 está soportado diagonalmente por una rampa 27 diagonal, formando preferiblemente la rampa 27 una parte solidaria de la cámara 60. El ánodo 23 está situado debajo de la matriz 20 de intercambio iónico y una matriz 29 de gel adicional que se contrae durante la electroforesis debido a la electroendosmosis tal como se describe en detalle a continuación en el presente documento. La matriz 29 de gel es preferiblemente el mismo gel que la matriz 18 de gel, sin embargo su resistencia de gel es inferior a la del gel 18. Por ejemplo, la matriz 18 de gel está comprendida por agarosa al 2% mientras que la matriz 29 de gel comprende agarosa al 0,3%.

25 En funcionamiento, durante una prueba de electroforesis, el agua fluye desde el lado del ánodo hasta el lado del cátodo de las matrices de gel debido a la electroendosmosis. Por consiguiente, la matriz 29 de gel se contrae gradualmente, creando de ese modo un espacio en el que se acumulan los gases generados en las proximidades del ánodo 23.

30 Según una realización preferida adicional de la presente invención, el cátodo 21 y el ánodo 23 están hechos de un material conductor que puede adsorber gases producidos durante el proceso de separación electroforética.

En una realización preferida, el cátodo 21 y el ánodo 23 están hechos de aluminio. Durante la electroforesis, el oxígeno producido en las proximidades del ánodo 23 reacciona con el ánodo de aluminio para formar óxido de aluminio, mediante lo cual que produce menos oxígeno libre en el lado del ánodo. La reducción en el volumen de gas producido, junto con el espacio creado para la acumulación de gas mediante la contracción de la matriz 29 de gel, palia la necesidad de un orificio de escape en el lado del ánodo del casete 25. Por tanto, el casete 25 puede incluir en su cubierta 62 sólo un único orificio 35 de escape por encima del volumen 30 vacío que es adyacente al cátodo.

40 En una realización alternativa, el ánodo está hecho de aluminio tal como se describió anteriormente en el presente documento, mientras que el cátodo está formado por paladio o cualquier otro material conductor adecuado que adsorbe hidrógeno en el lado del cátodo.

Todavía otra característica particular del casete 25 es que el cátodo 21 está soportado diagonalmente por la rampa 27. Esto facilita el contacto continuo entre el cátodo y la superficie de la matriz 22 de intercambio aniónico que recubre el cátodo 21, mediante lo cual la liberación de burbujas de gas producidas en las proximidades del cátodo 21 se dirige hacia el volumen 30 vacío.

50 En una realización preferida, la rampa 27 está formada como una parte solidaria de la cámara 60 y está inclinada hacia la pared 12 de fondo con un ángulo de aproximadamente 45 grados.

Ahora se hace referencia a las figuras 7 - 11 que ilustran un casete de electroforesis, generalmente con el número de referencia 125, construido y operativo según todavía otra realización preferida de la presente invención. El casete 125 de manera similar a los casetes 10 y 25 es un casete desechable cerrado usado para una única prueba de electroforesis y que incluye todos los compuestos químicos requeridos para impulsar la separación por electroforesis y para permitir la visualización de sus resultados cuando se han separado moléculas de ADN así como de ARN o de proteína.

60 El casete 125 comprende una cámara 160 tridimensional generalmente similar a la cámara 60 del casete 25 y una cubierta 162 generalmente similar a la cubierta 62 del casete 25. El casete 125 se diferencia del casete 25 en su fuente de iones para impulsar la separación por electroforesis. En la realización ilustrada, los elementos que generalmente son similares a los elementos de los casetes 10 y 25 están designados mediante números de referencia similares (por ejemplo, gel 18).

65 En la cámara 160, el cuerpo del gel 18 está dispuesto entremedias de dos espacios 120 y 122 que contienen una disolución tampón, tal como la disolución tampón TAE descrita anteriormente en el presente documento. Cada uno de los volúmenes 120 y 122 comprende en el mismo un depósito cerrado que incluye el mismo tampón, sin embargo en una concentración superior para proporcionar los iones para impulsar la separación por electroforesis. En la realización

ES 2 305 661 T3

preferida ilustrada, los depósitos cerrados son ampollas 116 y 134 rompibles que incluyen disoluciones 124 y 132 tampón respectivamente, que son de concentración superior a la de los volúmenes 120 y 122. Como un ejemplo no limitativo, la concentración de las disoluciones 124 y 132 es cincuenta veces superior a la de las disoluciones tampón de los espacios 120 y 122.

5

Se apreciará que las ampollas 116 y 134 están formadas por cualquier material adecuado sellado impermeable al agua, tal como plástico o vidrio, por tanto las disoluciones 124 y 132 tampón concentradas en las mismas no están en contacto con las disoluciones tampón que llenan los volúmenes 120 y 122.

10 En la realización ilustrada, las ampollas 116 y 134 están soportadas por soportes 106 de ampolla. En funcionamiento, el usuario rompe las ampollas 116 y 134 para proporcionar los iones en los tampones 124 y 132 a alta concentración, respectivamente, con el fin de proporcionar los iones requeridos para ejecutar la prueba de electroforesis, preferiblemente, tras proporcionar la corriente CC al casete 125.

15 En la realización ilustrada, cada una de las ampollas 116 y 134 está soportada debajo de una cubierta 110 flexible. Las cubiertas 110 flexibles están formadas por cualquier material flexible sensible a una fuerza mecánica, tal como caucho, para permitir la ruptura de las ampollas 116 y 134 una vez se aplica presión sobre las mismas, liberando de ese modo su contenido en los espacios 120 y 122 de tampón respectivamente.

20 Opcionalmente, la disolución 124 tampón concentrada contiene también un material adecuado para teñir ADN, preferiblemente cualquier fuente de cationes etidio, tal como bromuro de etidio para permitir la visualización UV de las muestras de ADN separadas tal como se describió anteriormente en el presente documento. En este caso, la cámara 160 está formada por un material transparente a UV.

25 Ahora se hace referencia a las figuras 12 - 15 que ilustran un casete de electroforesis, generalmente con el número de referencia 225, construido y operativo según todavía otra realización preferida de la presente invención. El casete 225 es similar al casete 125 y de manera similar a los casetes 10 y 25 y 125 es un casete desechable cerrado usado para una única prueba de electroforesis y que incluye todos los compuestos químicos requeridos para impulsar la separación por electroforesis y para permitir la visualización de sus resultados cuando se han separado moléculas de
30 ADN así como de ARN o de proteína.

El casete 225 es generalmente similar al casete 125 en construcción y funcionamiento y elementos similares tienen como referencia números de referencia similares. El casete 225 se diferencia del casete 125 en su ampolla y su mecanismo para romperla.

35

El casete 225 comprende dos ampollas 216 y 234 generalmente similares a las ampollas 116 y 134 que pueden fundirse haciendo pasar una corriente eléctrica a su través. Tal como se observa mejor en la figura 13, un hilo 240 de conducción está empotrado en la pared de las ampollas 216 y 234. En la realización ilustrada, el hilo 240 de conducción es un hilo único de alta resistividad que tiene dos extremos 226 a los que puede aplicarse una corriente eléctrica en un
40 circuito cerrado.

En funcionamiento, las ampollas 216 y 234 se funden justo antes de comenzar la prueba electroforética haciendo pasar una corriente a través del hilo 240 conductor conectando una fuente de energía eléctrica a los contactos 226. Preferiblemente, las partes de hilo 240 conductor no empotradas en las ampollas 216 y 234 están recubiertas con un
45 material aislante para aislarlas.

Ahora se hace referencia a la figura 16 que es una ilustración isométrica esquemática de un sistema para realizar una pluralidad de pruebas de electroforesis y que es adecuado para visualizar y documentar, *in situ*, los resultados de las mismas, construido y operativo según una realización preferida de la presente invención. El sistema, generalmente
50 con el número de referencia 100, comprende preferiblemente un alojamiento 102 de apoyo o de soporte para soportar cualquiera de los casetes 10, 25, 125 ó 225, una fuente 104 de alimentación para proporcionar la corriente continua (CC) requerida para impulsar el proceso de separación por electroforesis, un cable 105 para conectar cualquiera de los casetes 10, 25, 125 y 225 a la fuente 104 de alimentación y una fuente 106 de luz ultravioleta (UV) para iluminar los casetes 10, 25, 125 ó 225.

55

El apoyo 102 comprende preferiblemente dos puntos de contacto (no mostrados) a los que están conectados las varillas 24 y 26 del casete 10, o las tiras 21 y 23 de los casetes 25, 125 ó 225 para proporcionarles el campo eléctrico requerido para la separación por electroforesis.

60 Opcionalmente, el sistema 100 comprende también un segundo cable 107 para proporcionar la corriente requerida para calentar el hilo 240 conductor en el caso de que se use el casete 225. Por consiguiente, el apoyo 102 incluye un par adicional de contactos a los que están conectados los contactos 226 del casete 225 para proporcionarles la corriente eléctrica requerida para el hilo 240 conductor de calentamiento.

65 Otra característica opcional del sistema 100 es un medio para enfriar cualquiera de los casetes 10, 25, 125 ó 225, durante la prueba de electroforesis, tal como un flujo de gas enfriado, por ejemplo, nitrógeno líquido, ilustrado esquemáticamente mediante el balón 112 y el tubo 114.

ES 2 305 661 T3

En una realización preferida, el sistema 100 comprende también medios para documentar los resultados de separación por electroforesis. En la realización ilustrada, éstos incluyen una cámara, preferiblemente una cámara 116 de vídeo y un ordenador 119 conectado operativamente a la cámara 116 y que ejecuta cualquier aplicación adecuada para el análisis de imágenes de los resultados de la separación por electroforesis.

Una característica particular del sistema 100 es que tanto la prueba de electroforesis, la visualización de los resultados de la misma como opcionalmente la documentación y el análisis de la misma se realicen cuando el casete está *in situ*, es decir, en el apoyo 102.

A diferencia de los sistemas de electroforesis de la técnica anterior para la separación de moléculas de ADN en los que se toma el gel y se sumerge en un marcador sensible a UV, normalmente bromuro de etidio, después de la prueba, los casetes 10, 25, 125 y 225 incluyen preferiblemente cationes etidio tal como se describió anteriormente en el presente documento para permitir la visualización y por tanto, la documentación y el análisis de los resultados de la prueba de electroforesis.

En una realización ilustrada en la figura 16, el apoyo 102 es una construcción de tipo caja abierta independiente que incluye una superficie 108 de soporte sobre la que está colocado cualquiera de los casetes 10, 25, 125 ó 225. Alternativamente, puede incluir una superficie de fondo transparente a UV.

Otra característica particular del sistema 100 es que en relación con la técnica anterior, se requiere un número menor de operaciones por parte del usuario con el fin de realizar una prueba de electroforesis empleando cualquiera de los casetes 10, 25, 125 ó 225. Estas etapas, para la separación por electroforesis de moléculas de ADN incluyen:

- A. Se introduce en los pocillos una muestra que incluye las moléculas de ADN que han de separarse;
- B. Para los casetes 125 y 225 sólo, se rompen las ampollas 116 y 134;
- C. Se conecta la corriente eléctrica;
- D. Si se desea acelerar la separación se usa también el flujo de gas enfriado;
- E. Como resultado de las etapas A y C; A, B y C; A, C y D; o A, B, C y D; tiene lugar al mismo tiempo tanto la separación por electroforesis como la interacción de un compuesto detectable por UV con las moléculas de ADN separadas;
- F. Se enciende la lámpara 106 UV para visualizar los resultados de la separación. Los resultados pueden grabarse también mediante la cámara 116 de vídeo;
- G. Los resultados pueden transmitirse en línea al ordenador 119 para el análisis cuantitativo sobre la marcha de los resultados de la prueba de electroforesis; y
- H. El usuario desecha el casete 10.

Se apreciará que las realizaciones preferidas descritas anteriormente en el presente documento se describen únicamente a modo de ejemplo y que existen numerosas modificaciones de las mismas, de las que todas entran dentro del alcance de la presente invención. Por ejemplo, cualquiera de los casetes de la presente invención puede incluir una combinación de la matriz de intercambio iónico dispuesta a un lado del gel 18 y el depósito cerrado dispuesto al otro extremo del mismo. Otro ejemplo que está dentro del alcance de la presente invención es un casete bidimensional en el que las fuentes de iones están dispuestas en los cuatro lados del gel 18.

Los expertos en la técnica apreciarán que la presente invención no está limitada a lo que se ha mostrado y descrito en particular anteriormente en el presente documento. En cambio, el alcance de la presente invención está definido únicamente por las reivindicaciones siguientes:

REIVINDICACIONES

1. Casete sustancialmente cerrado para realizar electroforesis en el mismo, comprendiendo el casete:

un alojamiento que tiene al menos paredes de fondo (12) y laterales (14) que definen una cámara (11), en el que dicha cámara comprende, en contacto sí:

un cuerpo de gel (18) de separación para llevar a cabo en el mismo dicha electroforesis que comprende uno o más pocillos (36);

al menos una fuente (20, 22) de iones para proporcionar iones para impulsar dicha electroforesis, teniendo dicha al menos una fuente de iones un volumen inferior al volumen de dicho cuerpo de gel de separación, y

electrodos (24, 26) para conectar dicha cámara a una fuente de energía eléctrica externa, para permitir impulsar dicha electroforesis;

y una cubierta (16) que cierra dicha cámara para proporcionar el casete sustancialmente cerrado, en el que dicha cubierta o dicha cámara comprende al menos una abertura (38) sobre dicho uno o más pocillos (36).

2. Casete según la reivindicación 1, en el que dicha al menos una fuente (20, 22) de iones comprende un cuerpo de matriz de intercambio iónico.

3. Casete según la reivindicación 2, en el que dicho cuerpo de matriz de intercambio iónico comprende: un cuerpo de matriz de intercambio aniónico para proporcionar los aniones para impulsar dicha electroforesis.

4. Casete según la reivindicación 3, en el que dicho cuerpo de matriz de intercambio aniónico está dispuesto en un extremo de dicho cuerpo de gel.

5. Casete según la reivindicación 2, en el que dicho al menos un cuerpo de matriz de intercambio iónico comprende un cuerpo de matriz de intercambio catiónico para proporcionar los cationes para impulsar dicha electroforesis.

6. Casete según la reivindicación 5, en el que dicho cuerpo de matriz de intercambio catiónico está dispuesto en un extremo de dicho cuerpo de gel.

7. Casete según cualquier reivindicación anterior, en el que al menos una de la cámara o la cubierta es transparente a la radiación ultravioleta.

8. Casete según cualquier reivindicación anterior, que comprende además una estructura (40) de peine insertada en dicha al menos una abertura (38).

9. Casete según cualquier reivindicación anterior, en el que dicho casete es sustancialmente plano.

10. Casete según cualquier reivindicación anterior, en el que dicho cuerpo de gel está dispuesto entremedias de dos espacios que comprenden una disolución tampón.

11. Casete según cualquier reivindicación anterior, en el que dicho casete comprende al menos un volumen (28, 30) vacío.

12. Casete según cualquier reivindicación anterior, en el que dicha cubierta (16) comprende al menos un orificio (32) de escape que está cerrado antes de dicha prueba de electroforesis y se abre justo antes de dicha prueba de electroforesis.

13. Casete según cualquier reivindicación anterior, en el que dicho casete tiene una longitud, anchura y altura exteriores de, respectivamente, 100 mm, 80 mm y 6 mm.

14. Casete según cualquier reivindicación anterior, en el que dicho casete es desechable.

15. Casete según cualquier reivindicación anterior, en el que dicho gel comprende agarosa o acrilamida.

16. Casete según la reivindicación 1, en el que dicha cubierta 16) puede abrirse.

17. Casete según la reivindicación 1, en el que dicho casete comprende uno o más compuestos químicos para permitir la visualización durante el uso de moléculas de ADN, de ARN o de proteína.

18. Casete según la reivindicación 17, en el que dicho casete comprende uno o más compuestos químicos para permitir la visualización durante el uso de ADN o ARN.

ES 2 305 661 T3

19. Casete según la reivindicación 1, en el que dicha cubierta o dicha cámara comprende al menos dos aberturas (38) sobre dos o más pocillos (36).

20. Casete según la reivindicación 1, en el que dicha al menos una fuente de iones es un tampón de cátodo.

21. Casete según la reivindicación 1, en el que dicha al menos una fuente de iones es un tampón de ánodo.

22. Casete según la reivindicación 1, en el que dicho casete comprende un volumen vacío en las proximidades del cátodo.

23. Casete según la reivindicación 22, en el que dicha cubierta comprende un orificio de escape por encima de dicho volumen vacío en las proximidades del cátodo.

24. Casete según la reivindicación 1, en el que dicho gel comprende ADN, ARN o proteína.

25. Casete según la reivindicación 1, en el que dicho gel comprende ADN o ARN.

26. Casete según la reivindicación 1, en el que dicho gel comprende ADN.

27. Un método de electroforesis que comprende las etapas de:

introducir una muestra de prueba en un cuerpo de gel (18) de separación a través de al menos una abertura (38) en una cubierta (16) de un casete (10) sustancialmente cerrado, comprendiendo el casete dicho cuerpo de gel (18) de separación y al menos una fuente (20, 22) de iones que tiene un volumen inferior al volumen de dicho cuerpo de gel de separación;

aplicar un campo eléctrico a dicho gel; e

impulsar la electroforesis proporcionando los iones requeridos para impulsar dicha electroforesis mediante la al menos una fuente de iones dentro de dicho casete sustancialmente cerrado.

28. Método según la reivindicación 27, en el que dicho casete es desechable.

29. Método según la reivindicación 27 ó 28, en el que al menos una de la cámara o la cubierta es transparente a la radiación ultravioleta.

30. Método según cualquiera de las reivindicaciones 27 a 29, en el que dicho método comprende además abrir un orificio de escape en dicha cubierta de dicho casete antes de dicha aplicación de un campo eléctrico a dicho gel.

31. Método según cualquiera de las reivindicaciones 27 a 30, en el que dicha introducción de una muestra de prueba en dicho cuerpo de gel es la introducción de una muestra de prueba a través de dicha al menos una abertura en uno o más pocillos de dicho cuerpo de gel.

32. Método según la reivindicación 31, en el que dicho método comprende además retirar una estructura (40) de peine insertada en dicha al menos una abertura antes de dicha introducción de una muestra de prueba en dicho cuerpo de gel.

33. Método según la reivindicación 27, que comprende introducir una muestra de prueba que comprende ADN, ARN, o proteína en dicho cuerpo de gel.

34. Método según la reivindicación 27, que comprende introducir una muestra de prueba que comprende ADN o ARN.

35. Método según la reivindicación 27, que comprende introducir una muestra de prueba que comprende ADN en dicho cuerpo de gel.

36. Método según la reivindicación 28, en el que dicho casete comprende uno o más compuestos químicos para permitir la visualización de moléculas de ADN, de ARN o de proteína.

37. Método según la reivindicación 36, en el que dicho casete comprende uno o más compuestos químicos para permitir la visualización de ADN o ARN.

38. Método según la reivindicación 27, que comprende impulsar la electroforesis proporcionando los iones requeridos para impulsar dicha electroforesis mediante un tampón de ánodo que tiene a volumen inferior al volumen de dicho cuerpo de gel.

ES 2 305 661 T3

39. Método según la reivindicación 27, que comprende impulsar la electroforesis proporcionando los iones requeridos para impulsar dicha electroforesis mediante un tampón de cátodo que tiene un volumen inferior al volumen de dicho cuerpo de gel.

40. Sistema (100) de electroforesis que comprende:

un casete según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26; y

un apoyo (102) para dicho casete en el que dicho apoyo comprende puntos de contacto para dichos electrodos.

41. Sistema según la reivindicación 40, en el que dicho casete comprende compuestos químicos para permitir la visualización de moléculas de ADN, de ARN o de proteína, preferiblemente la visualización de los resultados de la separación por electroforesis se produce *in situ*.

42. Sistema según cualquiera de las reivindicaciones 40 ó 41, que comprende además medios para documentar los resultados de la separación por electroforesis.

43. Sistema según cualquiera de las reivindicaciones 40 a 42, en el que dichos medios para documentar los resultados de la separación por electroforesis comprenden una cámara (116) y un ordenador (119) conectado operativamente a la misma, en el que dicho ordenador puede ejecutar cualquier aplicación adecuada para el análisis de imágenes y preferiblemente la documentación y el análisis de los resultados de la separación por electroforesis se produce *in situ*.

44. Sistema según la reivindicación 40, que comprende además: una fuente (104) de alimentación o medios para enfriar dicho casete.

45. Sistema según la reivindicación 40, en el que al menos una de las paredes de dicho casete es transparente a la radiación ultravioleta y preferiblemente que comprende además una fuente (106) de luz ultravioleta.

FIG.1

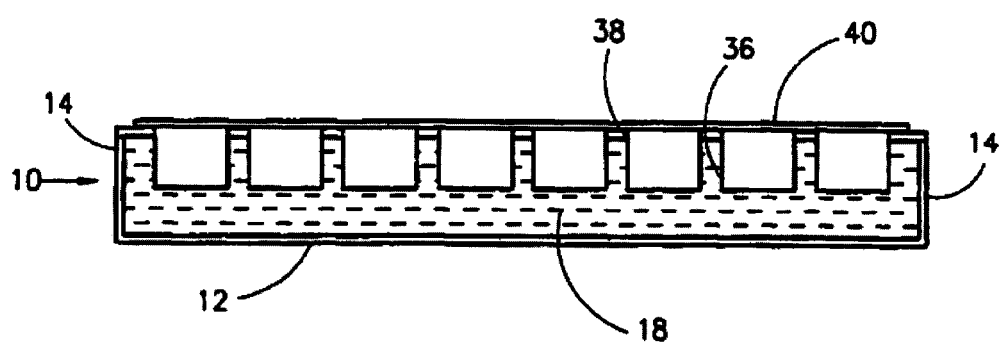
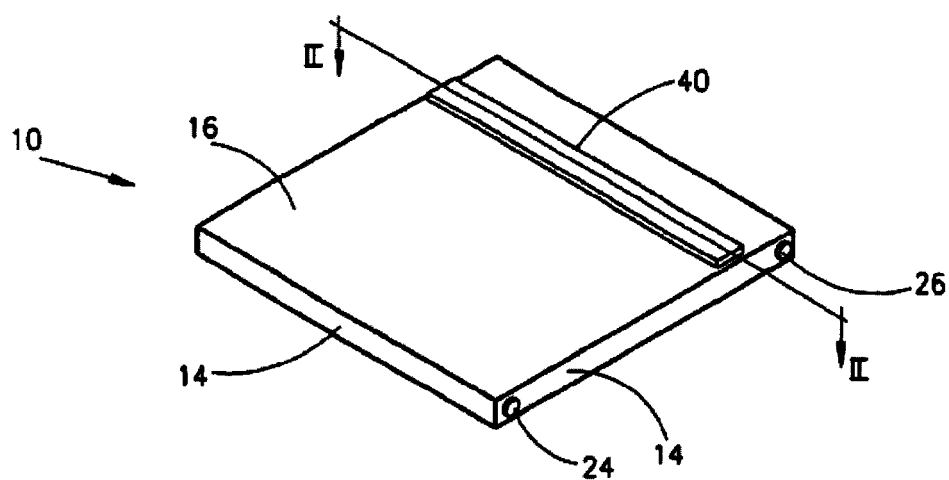
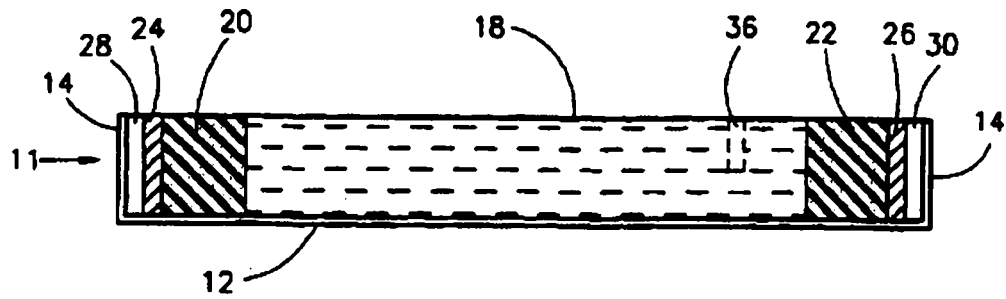
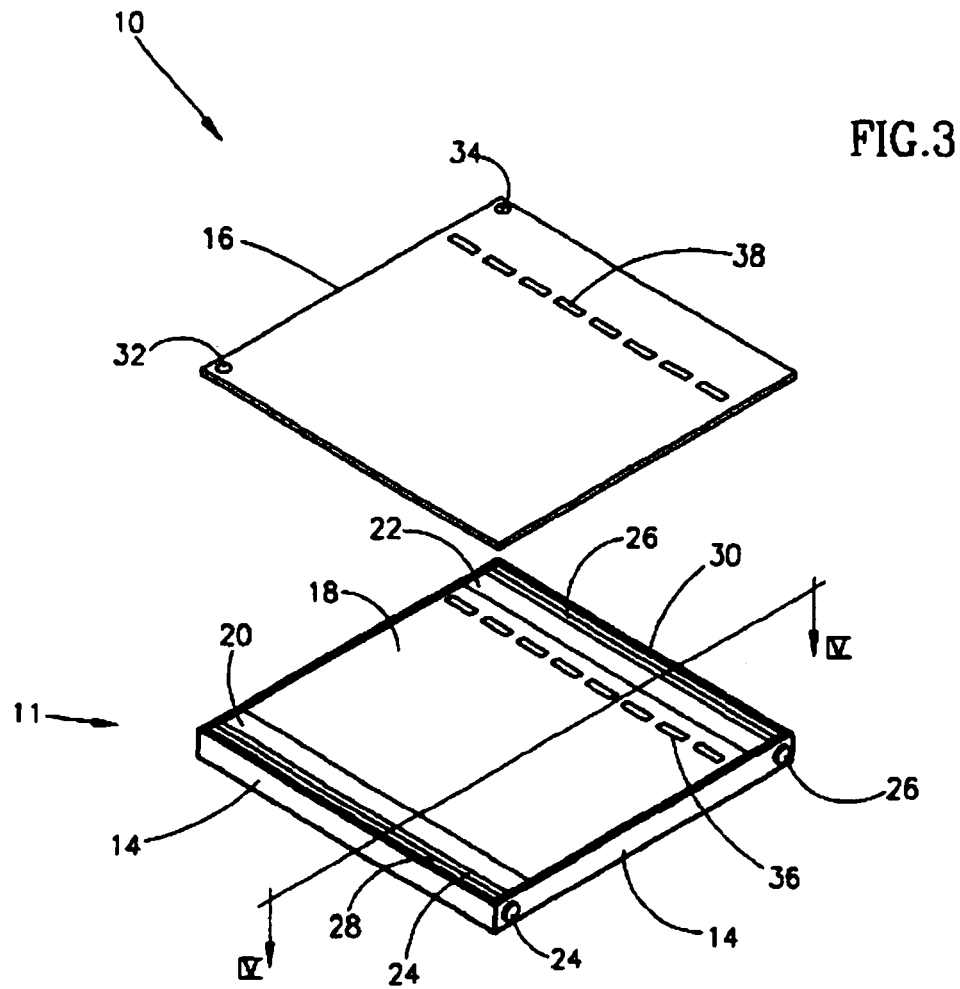
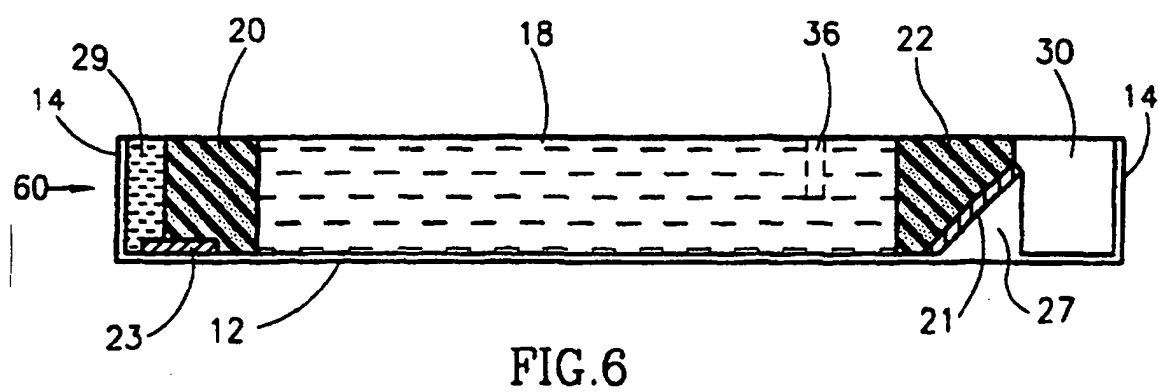
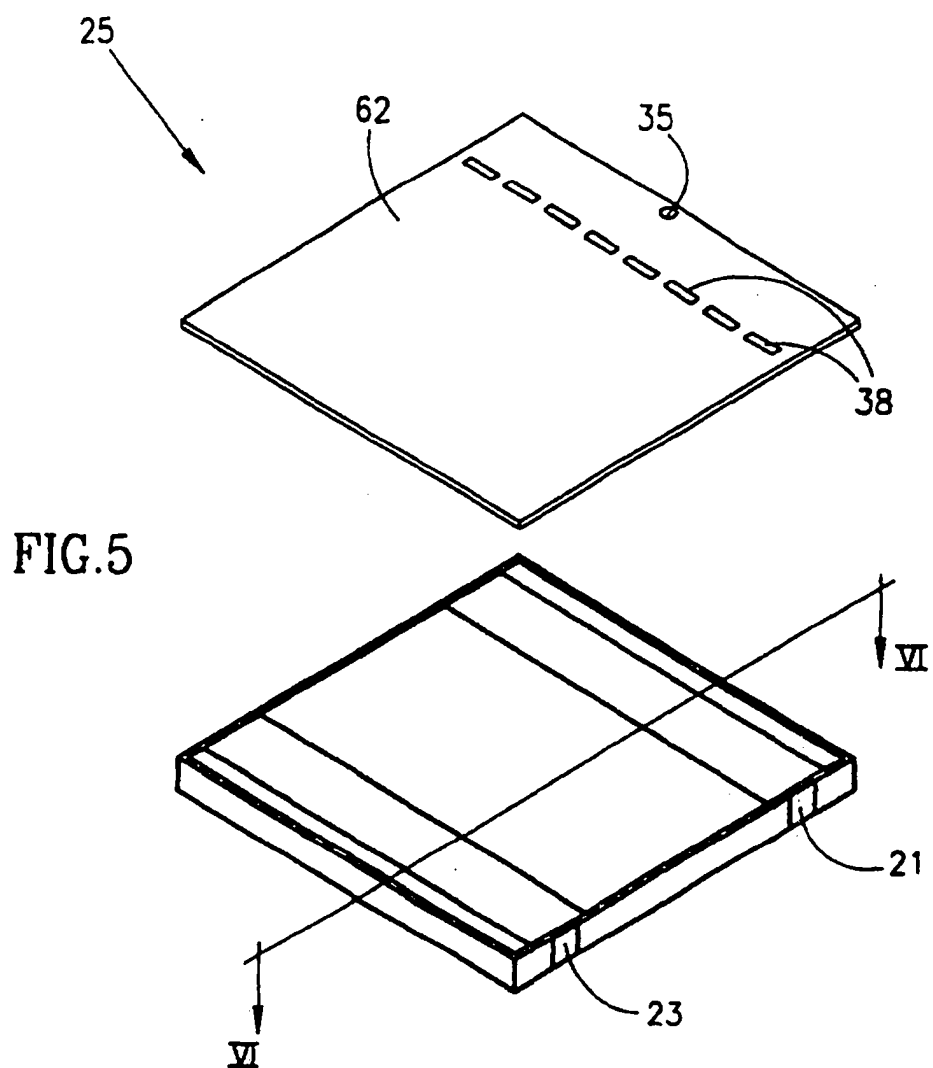
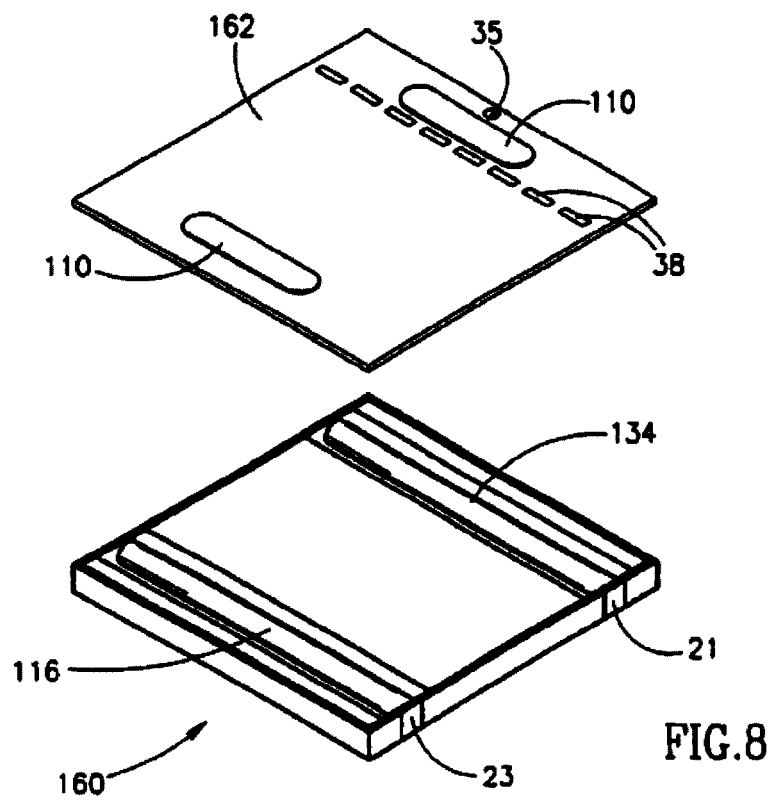
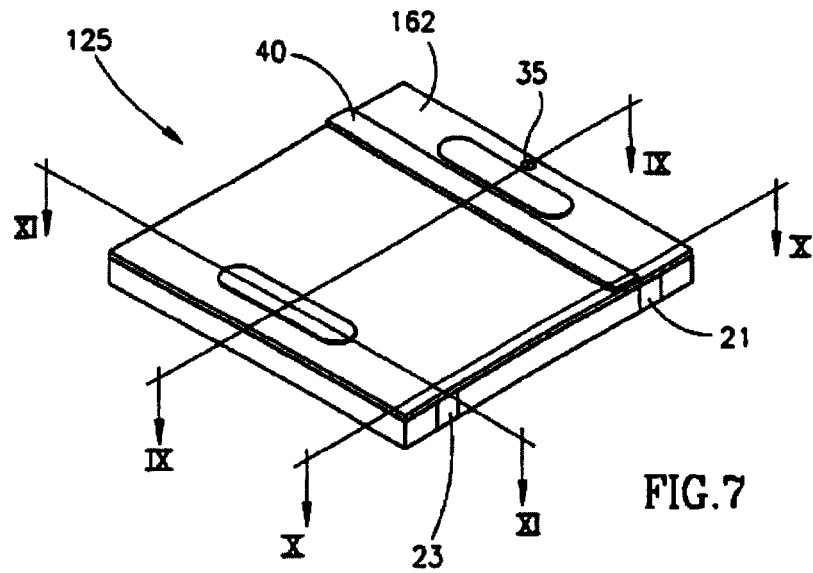
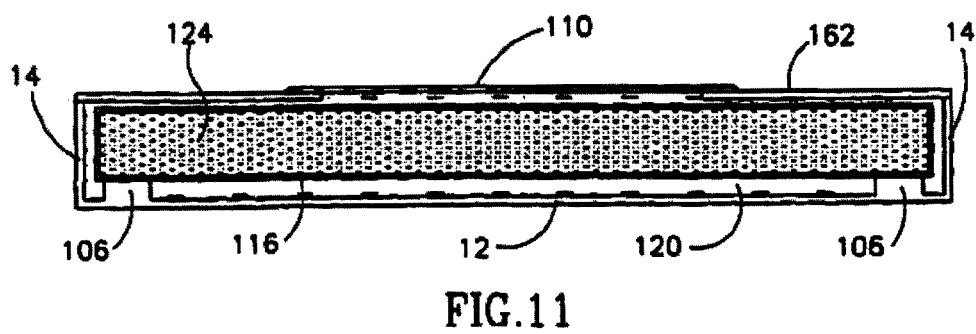
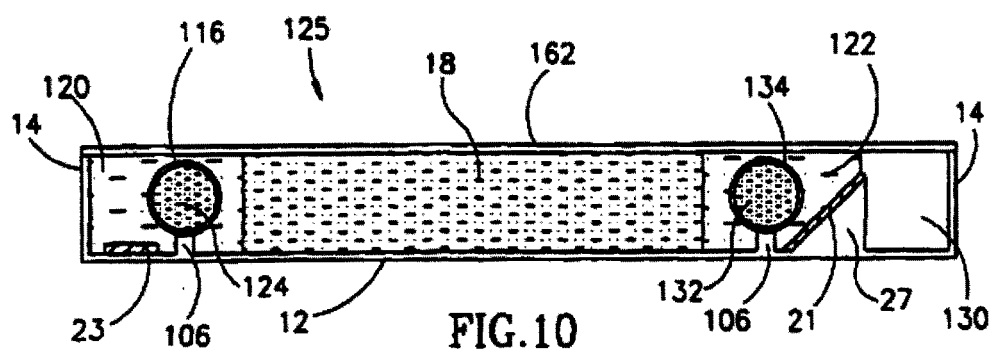
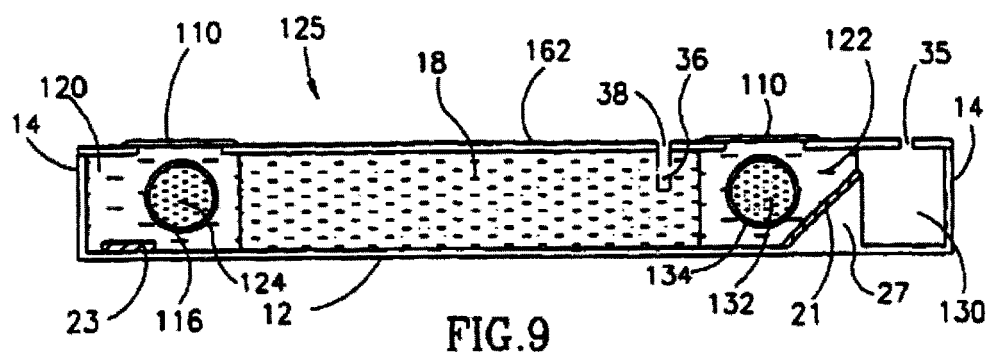


FIG.2









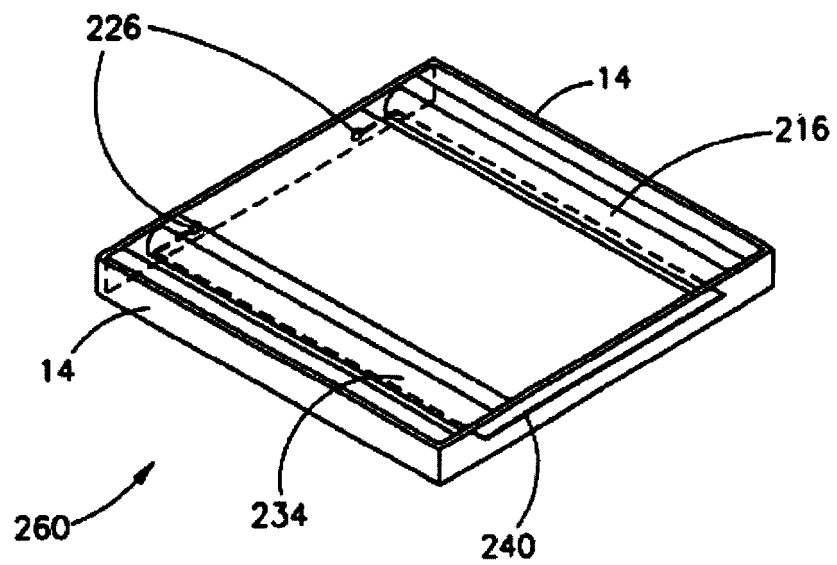
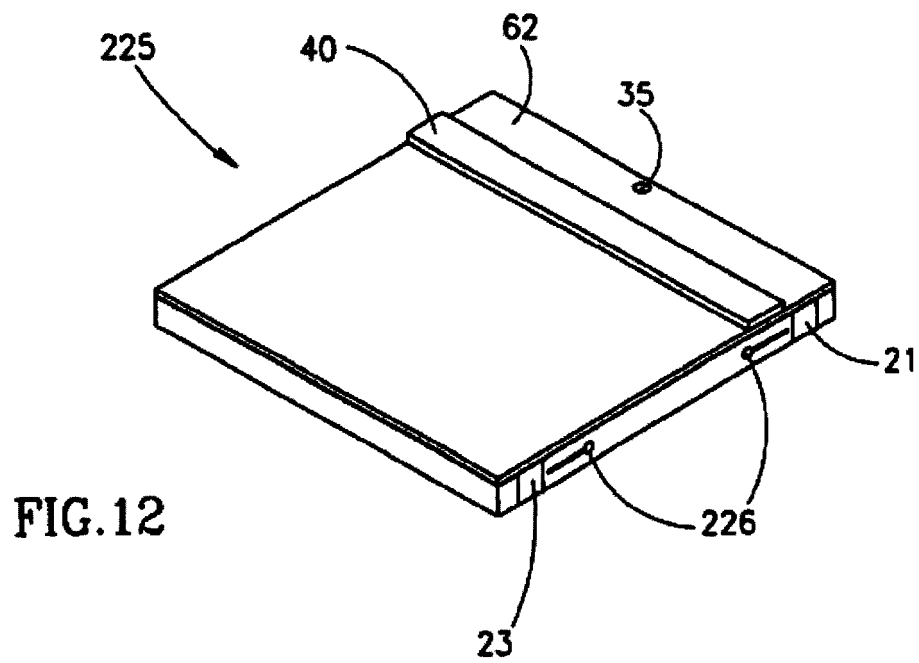


FIG.13

