

(19):



República Argentina  
Ministerio de Economía y Producción  
Secretaría de Industria, Comercio y de la  
Pequeña y Mediana Empresa  
Instituto Nacional de la Propiedad Industrial

(11) No de publicación:

**AR 108504 A1**

(41) Fecha de publicación:

**29.08.2018**

(51) Int. Cl.:

**H01L 27/118, H05K 3/00**

(12)

## Solicitud de Patente Independiente

(22) Fecha de presentación: **17/05/2017**

(71) Solicitante(s):

(21) Número de solicitud: **P170101319**

**CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES  
CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS (CONICET) , GODOY CRUZ  
2290, (1425) CDAD. AUT. DE BUENOS AIRES, AR  
COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA (CNEA) ,  
AV. DEL LIBERTADOR 8250, (1429) CDAD. AUT. DE  
BUENOS AIRES, AR**

(72) Inventor(es):

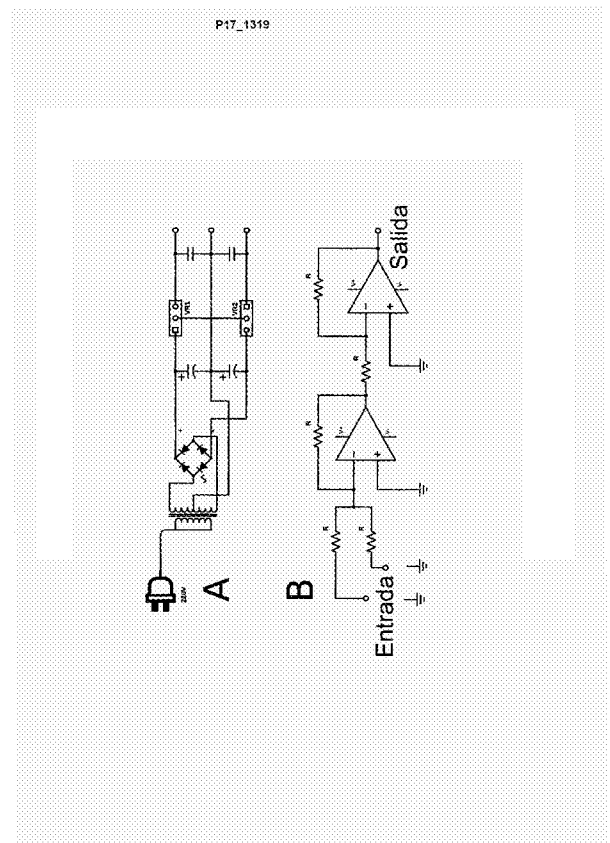
**PORTILLO, JAVIER OMAR; NADAL, MARCELA;  
DELLAVALLE CLARA, HECTOR DAMIAN; AMARILLO,  
YIMY**

(54) Título:

**CIRCUITO ELECTRÓNICO PARA SUMAR VOLTAJES, UTILIZADOS EN EXPERIMENTOS DE REGISTRO DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA DE NEURONAS CON TÉCNICAS COMBINADAS DE PATCH CLAMP Y DYNAMIC CLAMP**

(57) Resumen:

Un circuito electrónico para sumar voltajes utilizados en experimentos de registro de la actividad eléctrica de neuronas con técnicas combinadas de patch clamp y dynamic clamp. Con el objetivo de manipular conductancias individuales en neuronas, se ha desarrollado un sumador de voltaje en paralelo que permite el uso simultáneo de un amplificador para registrar la actividad eléctrica de la célula al mismo tiempo que permite la implementación de la técnica de dynamic clamp. Esta última permite modificar, en tiempo real, las propiedades cinéticas de un canal iónico determinado y poder estudiar así el efecto que tiene en el comportamiento electrofisiológico de la neurona.





**III. SOCIEDADES**

SOCIEDAD REPRESENTADA POR RAMIRO NICOLAS PEDRO PICASSO QUIEN  
 DECLARA BAJO JURAMENTO QUE INVISTE EL CARÁCTER DE APODERADO QUE SU  
 MANDATO SE ENCUENTRA VIGENTE Y LA SOCIEDAD SE HALLA INSCRIPTA EN \_\_\_\_\_:

Datos de Inscripción en R.P.C. / I.G.J.	Fecha:	Número	Nº Folio	Tomo:

**IV. MANDATO**

Poder inscripto en el I.N.P.I. bajo el número: \_\_\_\_\_

EN ESTE ACTO SE AUTORIZA A: (Apellido y Nombre y N° de DNI )

BRECKON GILDA DNI 22598196

Para todas aquellas gestiones de mero tramite tales como practicar desgloses, retirar testimonios, certificados, títulos, copias y notificaciones en el expediente.

Contestar vistas, desistir solicitud, realizar peticiones (solamente cuando el Autorizado sea Agente de la Propiedad Industrial)

SE ACOMPAÑA PODER	<input checked="" type="checkbox"/>	AGENTE N°	
-------------------	-------------------------------------	-----------	--

**V. DECLARACION DE DIVULGACION PREVIA**

A los efectos de lo indicado en el Art. 5° de la Ley 24.481, manifiesta que el presente invento ha sido divulgado previamente:  NO  (SI /NO) En caso afirmativo en fecha: 18/05/2016

**VI. OBSERVACIONES**

Se presenta adjunto articulo divulgado en fecha 18 de mayo de 2016 en la pagina de la CNEA cuyo nro de referencia es FO-INN-03-001 y que se refiere al informe técnico: "Planeación, Instalación y Puesta en Funcionamiento del Laboratorio de Electrofisiología Neuronal".

Se procede al pago de la tasa de examen de fondo que a tal efecto prevee el decreto 260/96, modificado por el decreto 878/06.

La presente solicitud se efectúa en carácter de Gestor de Negocios a favor de la la Comisión Nacional de Energía Atómica, quien se presentara a ratificar en legal termino.

Se deja constancia que los datos vertidos en el presente formulario revisten el carácter de declaración jurada; cualquier falsedad inserta en el mismo acarreará las consecuencias legales correspondientes.

NOTA: El pago del arancel correspondiente deberá concretarse al momento de la presentación o durante, las dos primeras horas de atención del subsiguiente día hábil. De no ocurrir el pago en dicho plazo, de pleno derecho de tendrá por no efectuada la presentación, la que no producirá efecto alguno.

Firma del / los autorizado / s \_\_\_\_\_  
 Firma del solicitante o su apoderado o representante legal \_\_\_\_\_

EL RAMIRO PICASSO  
 COORDINADOR GENERAL  
 DIRECCION DE INNOVACION TECNOLÓGICA

**USO INTERNO**

LA PRESENTACION CONSTA DE \_\_\_\_\_ FOJAS

**CAMBIO DE DOMICILIO/CORREO ELECTRONICO/TELEFONO:** \_\_\_\_\_ FECHA \_\_\_\_\_

Localidad: \_\_\_\_\_ C. P. N° \_\_\_\_\_ País de Residencia: \_\_\_\_\_

Dirección de e-mail: \_\_\_\_\_ Teléfono: \_\_\_\_\_

**CAMBIO DE APODERADO / AUTORIZADO:** \_\_\_\_\_ FECHA \_\_\_\_\_

Nuevo Apoderado o Autorizado: \_\_\_\_\_

**TRANSFERENCIA O CAMBIO DE RUBRO:** \_\_\_\_\_

INPI Exp.: **20170101319**

PARA I  
NACION/



Trámite: 17087967 PATENTES Importe: \$3200.-

Fecha/Hora: 17/05/2017 14:31:17.570

Solicitante: PARTICULAR

**INSTITUTO NACIONAL DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL  
ADMINISTRACION NACIONAL DE PATENTES**



REPUBLICA ARGENTINA



**ANEXO TITULARES**

Hoja  de

**Título de la Invención** CIRCUITO ELECTRÓNICO PARA SUMAR VOLTAJES, UTILIZADOS EN EXPERIMENTOS DE REGISTRO DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA DE NEURONAS CON TÉCNICAS COMBINADAS DE PATCH CLAMP Y DYNAMIC CLAMP

**Carácter de la Patente / Modelo de Utilidad** INDEPENDIENTE

COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA C.U.I.T. / C.U.I.L. / C.D.I.: CUIT: 30-54666021-0  
D.N.I.

**Personas Físicas:** Estado Civil: Nupcias

Nombre y apellido del cónyuge: D.N.I.

Av del Libertador 8250

Localidad: Ciudad De Buenos Aires C. P. N° 1429 País de Residencia: AR

**Personas Jurídicas: Datos de Inscripción en R.P.C. / I.G.J.** Fecha: Número N° Folio Tomo:

Dirección de e-mail: Teléfono: 011 4704-1000

LICENCIADO P. PICASSO  
GERENTE GENERAL  
DIRECCION GENERAL DE INVESTIGACION TECNOLÓGICA  
CONICET

Datos del representante legal

Firma del solicitante o su representante legal

C.U.I.T. / C.U.I.L. / C.D.I.:  
D.N.I.

**Personas Físicas:** Estado Civil: Nupcias

Nombre y apellido del cónyuge: D.N.I.

Domicilio Real: Calle, N° Piso y Dpto.

Localidad: C. P. N° País de Residencia:

**Personas Jurídicas: Datos de Inscripción en R.P.C. / I.G.J.** Fecha: Número N° Folio Tomo:

Dirección de e-mail: Teléfono:

Datos del representante legal

Firma del solicitante o su representante legal

Memoria Descriptiva  
de la  
Patente de invención.

Sobre:

“CIRCUITO ELECTRÓNICO PARA SUMAR VOLTAJES,  
UTILIZADOS EN EXPERIMENTOS DE REGISTRO DE LA  
ACTIVIDAD ELÉCTRICA DE NEURONAS CON TÉCNICAS  
COMBINADAS DE PATCH CLAMP Y DYNAMIC CLAMP”

Solicitada por:

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. (CONICET)  
Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA)

Inventores:

AMARILLO, YIMY  
DELLAVALLE CLARA, HECTOR DAMIAN  
NADAL, Marcela  
Portillo, Javier Omar

Domicilio:

Godoy cruz 2290, Piso 10 (C.P.: 1425), Dirección de Vinculación Tecnológica;

Por el plazo de: **20** años.

CIRCUITO ELECTRÓNICO PARA SUMAR VOLTAJES, UTILIZADO EN  
EXPERIMENTOS DE REGISTRO DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA DE  
NEURONAS CON TÉCNICAS COMBINADAS DE PATCH CLAMP Y DYNAMIC  
CLAMP

5

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un circuito electrónico para sumar voltajes  
10 que son utilizados en experimentos de registro de la actividad eléctrica de neuronas con  
técnicas combinadas de patch clamp y dynamic clamp.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

En el Laboratorio de Neurociencias del Centro Atómico Bariloche (a cargo  
15 del Dr. Yimy Amarillo y la Dra. Marcela Nadal) se realizan mediciones de la actividad  
eléctrica de neuronas individuales con un amplificador MultiClamp 700B (Axon  
instruments – Molecular Devices) en respuesta a estímulos controlados. En la técnica de  
patch clamp, que permite estudiar la actividad de los distintos canales iónicos de una  
neurona, se forma un sello entre la membrana y la micropipeta de vidrio que contiene el  
20 electrodo de registro. La señal registrada es enviada al amplificador y está en el rango de  
1 pA a 20nA. Luego de amplificada, la señal es digitalizada por la tarjeta de adquisición  
Digidata 1440A, la cual es comandada por el software PClamp10 (Clampex). Esta  
interfaz también se utiliza para comandar los protocolos de inyección de corriente en  
experimentos de current clamp y para mantener el voltaje a un valor constante  
25 determinado en experimentos de voltage clamp. La diferencia de potencial en la salida

analógica de la interfaz es convertida en corriente por el amplificador según el protocolo administrado por el software, que permite programar la inyección de corriente de amplitud variada y de pulsos en escalón a distintos voltajes.

La técnica de dynamic clamp permite modificar conductancias iónicas individuales en neuronas reales utilizando estímulos complejos guiados por el modelo computacional de la conductancia de interés. La interacción en tiempo real entre la computadora y la célula permite la introducción de modificaciones extremadamente precisas y rápidas en las propiedades del canal: tiempo de activación e inactivación, magnitud de la conductancia y recuperación de la inactivación. El sistema de dynamic clamp consiste en una tarjeta de adquisición DAQ PCIe-6351, la cual recibe el valor del potencial de membrana de la neurona real de la salida analógica del amplificador, y luego inyecta la corriente que satisface la solución numérica de la ecuación diferencial que describe una conductancia iónica en particular. La tarjeta es comandada por el software de dynamic clamp StdpC, que utiliza el voltaje para resolver en tiempo real (utilizando el procesador de la computadora) la ecuación que describe la conductancia de interés. El resultado (en unidades de corriente) es comando como una diferencia de potencial en la salida de la interfaz de dynamic clamp, la cual está conectada a la entrada analógica del amplificador. Este proceso es realizado iterativamente a una frecuencia aproximada de 50 KHz.

Con el sistema implementado no era posible aplicar protocolos de estimulación en forma simultánea con el dynamic clamp debido a limitaciones de hardware: El amplificador de patch clamp (multiclamp 700 B de Molecular Devices) sólo tiene una entrada analógica BNC para comandar la inyección de corriente en cada uno de los electrodos de registro. Durante un experimento típico de patch clamp y dynamic clamp combinados se debe poder controlar el potencial de membrana

(mediante la inyección de corriente) al mismo tiempo que se implementa el lazo computacional del dynamic clamp. Para esto es necesario poder comandar simultáneamente el amplificador con dos fuentes de voltaje independientes provistas por dos interfaces digital/analógicas. En base a estas necesidades, se llevó a cabo la  
5 implementación de un circuito electrónico capaz de tomar las señales (analógicas) provenientes de ambas fuentes de voltaje, sumarlas en paralelo y entregarlas al amplificador.

#### RESUMEN DE LA INVENCION

10 Con el objetivo de manipular conductancias individuales en neuronas, se ha desarrollado un sumador de voltaje en paralelo que permite el uso simultáneo de un amplificador para registrar la actividad eléctrica de la célula al mismo tiempo que permite la implementación de la técnica de dynamic clamp. Esta última permite modificar, en tiempo real, las propiedades cinéticas de un canal iónico determinado y  
15 poder estudiar así el efecto que tiene en el comportamiento electrofisiológico de la neurona.

Es por lo tanto un objeto de la presente invención proveer un circuito electrónico para sumar voltajes utilizados en experimentos de registro de la actividad eléctrica de neuronas con técnicas combinadas de patch clamp y dynamic clamp,  
20 estando el circuito compuesto por al menos un sumador integrado por al menos dos amplificadores operacionales con retroalimentación negativa, en donde el primer amplificador realiza la suma de tensiones, en tanto que el segundo amplificador invierte la polarización nuevamente; y comprende además una fuente de alimentación.

## DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

Para mayor claridad y comprensión del objeto de la presente invención, se lo ha ilustrado en varias figuras, en las que se ha representado el mismo en una de las formas preferidas de realización, todo a título de ejemplo, en donde:

5 Las figura 1A y 1B muestran un esquema del circuito objeto de la presente invención;

La figura 2 es un gráfico que ilustra la aplicación simultánea de un protocolo de inyección de corriente y la adición de conductancias mediante dynamic clamp en una célula modelo.

10 La figura 3 es un gráfico que ilustra la aplicación simultánea de un protocolo de inyección de corriente y la adición de conductancias mediante dynamic clamp en una neurona talamocortical *in vitro*.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL EJEMPLO DE REALIZACIÓN

15 Haciendo ahora referencia a la figura 1, se observa el circuito objeto de la presente invención, el cual en esta realización particular consta de dos partes: (1) el sumador, integrado por dos amplificadores operacionales con retroalimentación negativa (Fig. 1A): el primero realiza la suma de tensiones, cambiando la polarización (sumador inversor), mientras que el segundo invierte la polarización nuevamente (inversor); y (2)  
20 una fuente capaz de entregar una tensión continua de  $\pm 12V$  (Fig. 2B), con el objetivo de alimentar los amplificadores, tomando tensión alterna de línea (220V).

Los amplificadores operacionales (OA) utilizados fueron seleccionados teniendo en cuenta la tensión (10V) y corrientes (nA) utilizadas, pero principalmente teniendo en cuenta la capacidad de respuesta necesaria (50 KHz). Las resistencias  
25 utilizadas son de igual valor ( $R=10k$ ). Esquema del circuito implementado para la

inyección simultánea de 2 corrientes. (A) Sumador no inversor implementado con amplificadores operacionales. (B) Fuente  $\pm 12V$  utilizada para la alimentación de los amplificadores conectados con retroalimentación negativa. Las señales que ingresan al circuito son sumadas y entregadas al amplificador.

5 Haciendo ahora referencia a la figura 2, para poner a prueba el circuito sumador, se ha empleado una célula modelo Patch-1U (Axon Instruments, Molecular Devices), que es un circuito RC con valores de conductancia  $C = 33 \text{ pF}$  y resistencia  $R = 500 \text{ M}\Omega$ . Se conectó al sumador, que recibe señales tanto del amplificador MC- 700B como del sistema de dynamic clamp y se aplicaron, en forma simultánea, protocolos de estimulación y el resultado computacional de dynamic clamp (Fig. 2). Como se observa en la figura, ambas señales se ven reflejadas en los registros (Fig. 2B).

En dicha figura se observa la aplicación simultánea de un protocolo de inyección de corriente y la adición de conductancias mediante dynamic clamp en la célula modelo. En donde en A. se observa la respuesta de la célula modelo a un protocolo de pulsos de 1.5 segundos de duración desde  $-200.0 \text{ pA}$  en incrementos de  $50.0 \text{ pA}$  en ausencia de dynamic clamp. En tanto que en B. se observa la respuesta de la célula modelo al mismo protocolo de inyección de corriente en A durante la adición de las conductancias de fuga de potasio ( $I_{Kleak}$ ;  $\bar{g}_{Kleak} 6.0 \text{ nS}$ ) y de bajo umbral de calcio ( $I_T$ ;  $\bar{g}_T = 40 \text{ nS}$ ) mediante dynamic clamp. En los insertos se muestran ampliaciones de las zonas demarcadas en las cuales se observa las corrientes típicas obtenidas cuando se produce activación de la conductancia T mediante despolarización (últimos trazos despolarizantes del inserto a la izquierda) y después de la remoción de la inactivación de  $I_T$  por hiperpolarización (inserto de la derecha).

Las propiedades de membrana de las neuronas talamocorticales (TC)<sup>1</sup> combinadas con la arquitectura de conexiones sinápticas recíprocas del circuito

talamocortical (inhibición recurrente del núcleo talámico reticular y excitación recurrente de la corteza cerebral) dan lugar a la unidad oscilatoria intrínseca que modula el procesamiento de información sensorial y cortical<sup>2</sup>. A nivel global, el estado de sincronización del sistema talamocortical se correlaciona con estados funcionales del cerebro durante el ciclo sueño-vigilia<sup>2</sup>, y a nivel celular, estos estados funcionales se corresponden con las dos formas de disparo de las neuronas TC: en ráfagas y tónico. El modo de disparo repetitivo en ráfagas es estereotipado y se genera a potenciales hiperpolarizados ( $\sim -80\text{mV}$ ), mientras que el disparo tónico de espigas se produce a niveles despolarizados de potencial de membrana ( $\sim -60\text{mV}$ ). Previamente en nuestro grupo se utilizaron técnicas electrofisiológicas, farmacológicas y genéticas para aislar y caracterizar las distintas conductancias activas a potenciales subumbrales (entre  $-84\text{mV}$  a  $-55\text{mV}$ ) que contribuyen al potencial de reposo en las neuronas talamocorticales (TC)<sup>1</sup>:  $I_h$ , corriente catiónica activada por hiperpolarización;  $I_{Kir}$ , corriente rectificadora de entrada de potasio;  $I_{NaP}$ , corriente persistente de sodio;  $I_T$ , corriente de calcio de bajo umbral;  $I_A$ , corriente de potasio inactivante; y las corrientes "leak" (o de fuga),  $I_{Naleak}$  y  $I_{Kleak}$ , de sodio y de potasio, respectivamente. Con la información obtenida sobre las propiedades biofísicas de estas siete conductancias, construimos un modelo realista monocompartimental de las neuronas TC en NEURON<sup>3</sup>, el cual incluye también la dinámica intracelular de calcio. Luego de comprobar que el modelo reproduce el comportamiento biofísico (trayectoria y dependencia de voltaje) de todas las corrientes, lo utilizamos para determinar cuáles son los cambios en los parámetros de las conductancias subumbral que permiten el disparo repetitivo en ráfagas. Observamos que un aumento en la disponibilidad de la corriente T (ya sea aumentando la conductancia máxima o modificando la voltaje dependencia de las variables de activación e inactivación) es determinante para inducir oscilaciones intrínsecas. Otras

modificaciones permisivas de la periodicidad son: una disminución de la conductancia de los canales tipo A, un aumento de la conductancia de los canales NaP, y un aumento de la conductancia de los canales Kir. Para determinar la contribución relativa de las distintas conductancias subumbrales de las neuronas TC en la generación y mantenimiento del disparo repetitivo en ráfagas, examinamos el comportamiento de cada una de ellas durante simulaciones del curso temporal de espigas de bajo umbral (LTSs). De este análisis surge un modelo amplio del control del potencial de reposo y de la generación de oscilaciones intrínsecas en la banda delta de neuronas TC. Este modelo incluye tres variables amplificadoras: mT e INaP amplifican la despolarización mientras que el desbloqueo de IKir amplifica la hiperpolarización, y tres variables resonadoras: hT y la activación de IA recuperan el potencial de membrana de la despolarización, mientras que la activación de Ih recupera el potencial de membrana de la hiperpolarización. Las oscilaciones intrínsecas de membrana en neuronas TC son posibles si las magnitudes de las variables resonadoras son tales que permiten la activación regenerativa de las variables amplificadoras, al mismo tiempo que cumplen su función recuperadora<sup>1</sup>.

La técnica de dynamic clamp permite la adición o substracción de conductancias iónicas en tiempo real en neuronas vivas (*in vitro*) para evaluar su impacto sobre el comportamiento electrofisiológico. Para poner a prueba algunas de las predicciones surgidas del análisis computacional de las conductancias subumbral de neuronas talamocorticales<sup>1</sup> implementamos esta técnica adaptando el software StdpC y utilizando el sumador de voltaje descrito más arriba (Fig. 1). En particular, confirmamos el efecto ritmogénico que tiene aumentar la corriente Kir en neuronas TC reales durante experimentos de patch clamp (ver Fig. 3). Los valores de gKir utilizados se encuentran

en el rango de valores requeridos durante simulaciones con el modelo multicompartimental (10 a 35 nS, n = 6 células).

Haciendo ahora referencia a la figura 3, se observa la aplicación simultánea de un protocolo de inyección de corriente y la adición de conductancias mediante dynamic clamp en una neurona talamocortical *in vitro*. En la figura 3A, se puede apreciar el efecto de la introducción de la conductancia rectificadora de potasio ( $I_{Kir}$ ;  $\bar{g}_{Kir} = 30$  nS) en una neurona TC registrada mediante patch clamp. Una vez se enciende el dynamic clamp con las ecuaciones que describen la corriente  $K_{ir}$  (indicado por la flecha), la neurona inicia el disparo repetitivo de ráfagas a una frecuencia aproximada de 0.5 Hz. B. Respuesta de la misma célula en A a la aplicación de un protocolo de pulsos de 8 segundos de duración desde -120 pA en incrementos de 30 pA en ausencia de dynamic clamp. Nótese la ausencia de actividad oscilatoria periódica a todos los niveles de inyección de corriente. C. Respuesta de la misma neurona TC al protocolo descrito en B durante la adición de  $I_{Kir}$  ( $\bar{g}_{Kir} = 30$  nS) mediante dynamic clamp. La célula responde con actividad oscilatoria exclusivamente a niveles de inyección de corriente entre -30 y -60 pA.

De esta manera se puede declarar que se ha desarrollado un sumador de voltaje en paralelo que permite el uso simultáneo de un amplificador Multiclamp 700B y la implementación de la técnica de dynamic clamp. Este tipo de desarrollo no se encuentra disponible comercialmente y resulta invaluable para modificar, en tiempo real, las propiedades cinéticas de un canal iónico determinado y poder estudiar así su función en el comportamiento electrofisiológico de una neurona.

#### REFERENCIAS CITADAS EN LA PRESENTE DESCRIPCION

1. Y. Amarillo, E. Zagha, G. Mato, B. Rudy, M. S. Nadal, The interplay of seven subthreshold conductances controls the resting- membrane potential and the oscillatory behavior of thalamocortical neurons. *J Neurophysiol* 112, 393 (Jul 15, 2014).

2. G. Buzsaki, *Rhythms of the Brain*. (Oxford University Press, Inc, New York, 2006), pp. 175-205. 3. M. L. Hines, N. T. Carnevale, The NEURON simulation environment. *Neural Comput* 9, 1179 (Aug 15, 1997).

4. R. Zomorodi, H. Kroger, I. Timofeev, Modeling thalamocortical cell: impact of ca channel distribution and cell geometry on firing pattern. *Front Comput Neurosci* 2, 5 (2008).

10 5. D. A. Hoffman, J. C. Magee, C. M. Colbert, D. Johnston, K<sup>+</sup> channel regulation of signal propagation in dendrites of hippocam- pal pyramidal neurons. *Nature* 387, 869 (Jun 26, 1997).

6. A. Destexhe, M. Neubig, D. Ulrich, J. Huguenard, Dendritic low- threshold calcium currents in thalamic relay cells. *J Neurosci* 18, 3574 (May 15, 1998).

15 7. I. Kemenes et al., Dynamic clamp with StdpC software. *Nature protocols* 6, 405 (Mar, 2011).

### REIVINDICACIONES

Habiendo así especialmente descrito y determinado la naturaleza de la presente invención y la forma como la misma ha de ser llevada a la práctica, se declara reivindicar como de propiedad y derecho exclusivo:

5                   1. Un circuito electrónico para sumar voltajes utilizados en experimentos de registro de la actividad eléctrica de neuronas con técnicas combinadas de patch clamp y dynamic clamp, estando el circuito caracterizado porque comprende al menos un sumador integrado por al menos dos amplificadores operacionales con retroalimentación negativa, en donde el primer amplificador realiza la suma de tensiones, en tanto que el  
10                   segundo amplificador invierte la polarización nuevamente; y comprende además una fuente de alimentación.

                    2. El circuito electrónico de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque dicha fuente de alimentación es capaz de entregar una tensión continua,  
15                   alimentando los amplificadores, tomando tensión alterna de línea.

                    3. El circuito electrónico de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque dicho segundo amplificador realizar el cambio de polarización (sumador inversor).  
20

                    4. El circuito de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque dichos amplificadores operacionales son seleccionados teniendo en cuenta la tensión y corrientes utilizadas.

5. El circuito electrónico de acuerdo con la reivindicación 4, caracterizado porque dicha selección es realizada considerando la capacidad de respuesta necesaria.

6. El circuito electrónico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque las señales que ingresan al circuito son sumadas y entregadas al amplificador.

7. El circuito electrónico de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque para poner a prueba el circuito sumador, se ha empleado una célula modelo Patch-1U (Axon Instruments, Molecular Devices), el cual es un circuito RC con valores de conductancia  $C= 33 \text{ pF}$  y resistencia  $R= 500 \text{ M}\Omega$ .

8. El circuito electrónico de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizado porque dicha célula se conecta al sumador, el cual recibe señales tanto del amplificador como del sistema de dynamic clamp.

9. El circuito electrónico de acuerdo con las reivindicaciones 7 y 8, caracterizado porque se aplicaron, en forma simultánea, protocolos de estimulación y el resultado computacional de dynamic clamp.



LIC. RAMIRO PICASSO  
DIRECTOR GENERAL  
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIONES  
CONICET

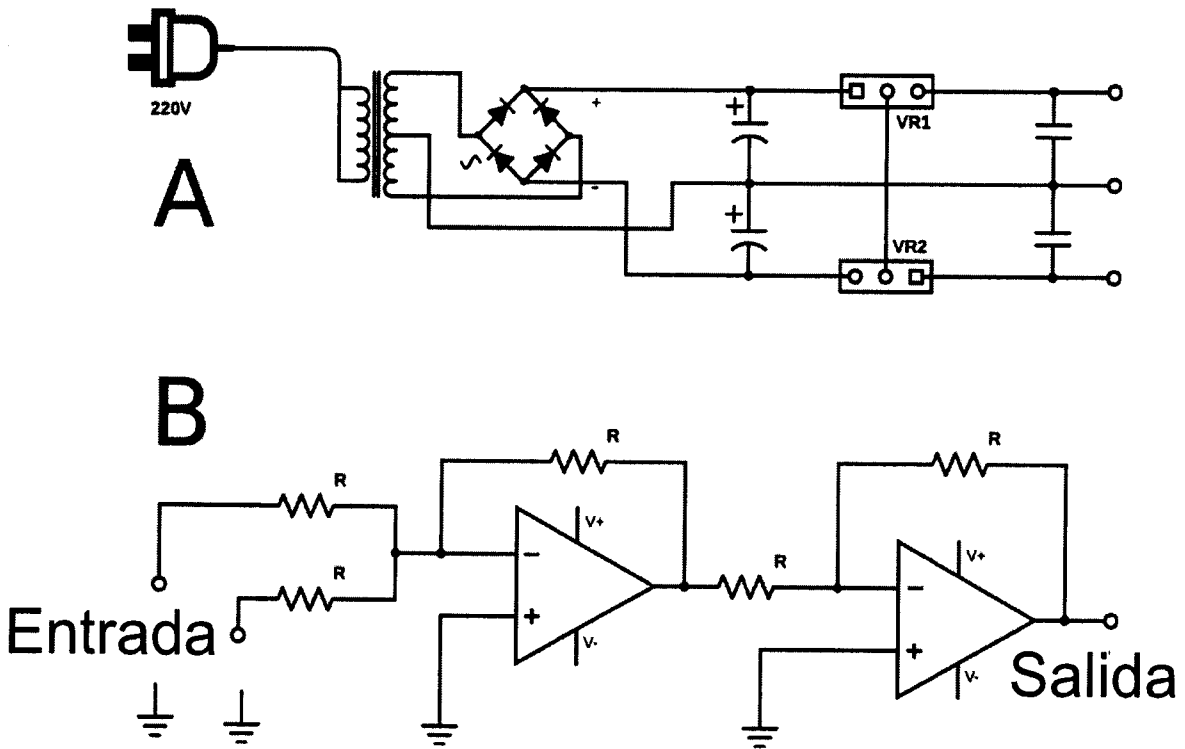


Fig 1

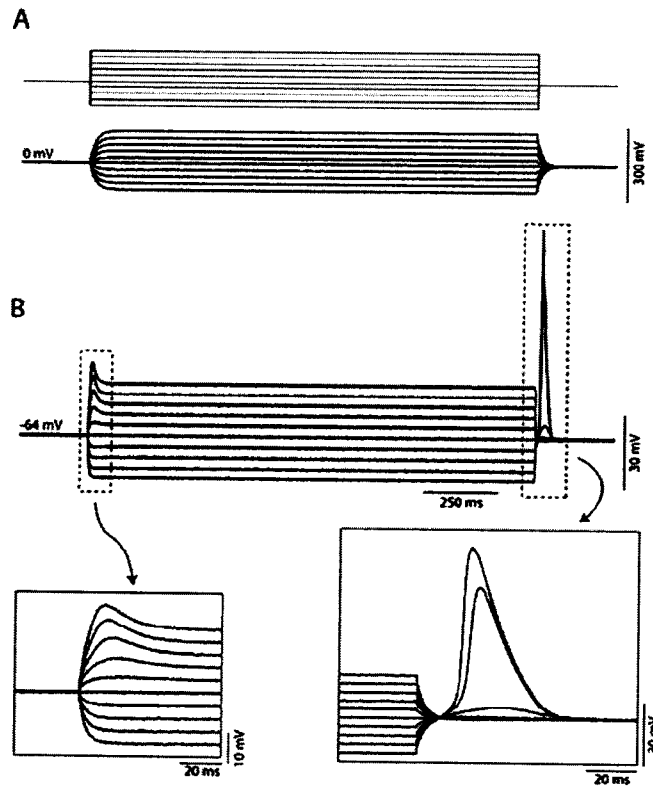


Fig 2

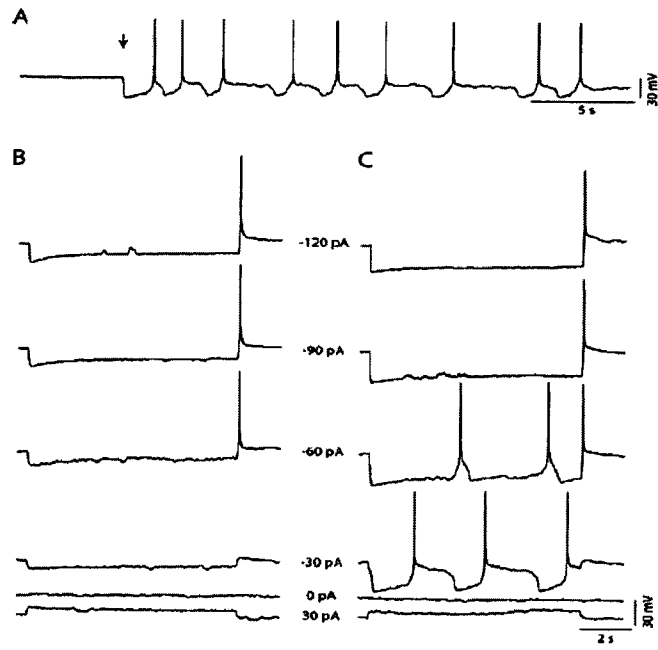


Fig 3

## RESUMEN

Un circuito electrónico para sumar voltajes utilizados en experimentos de registro de la actividad eléctrica de neuronas con técnicas combinadas de patch clamp y dynamic clamp. Con el objetivo de manipular conductancias individuales en neuronas, se ha desarrollado un sumador de voltaje en paralelo que permite el uso simultáneo de un amplificador para registrar la actividad eléctrica de la célula al mismo tiempo que permite la implementación de la técnica de dynamic clamp. Esta última permite modificar, en tiempo real, las propiedades cinéticas de un canal iónico determinado y poder estudiar así el efecto que tiene en el comportamiento electrofisiológico de la neurona.

INPI Exp.: 20170101319

PARA USO I  
DE



Trámite: 17087967 PATENTES Importe: \$3200.-

Fecha/Hora: 17/05/2017 14:31:17.570

Solicitante: PARTICULAR



REPUBLICA ARGENTINA

INSTITUTO NACIONAL DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL  
ADMINISTRACION NACIONAL DE PATENTES



HOJA TÉCNICA

(10) PUBLICACION N°: AR

(12)  PATENTE DE INVENCION

MODELO DE UTILIDAD

(21) SOLICITUD N°

(51) INT. CL:

(22) FECHA DE SOLICITUD

(71) SOLICITANTE (S):

(30) DATOS DE PRIORIDAD

CONICET/CNEA

(41) FECHA DE PUBLICACION

BOLETIN N°

(72) INVENTOR (ES):

(61) ADICIONAL A:

AMARILLO, YIMY  
DELLAVALLE CLARA, HECTOR DAMIAN  
NADAL, Marcela  
Portillo, Javier Omar

(62) DIVISIONAL DE:

(74) AGENTE N°:

(83) DEPOSITO DE MICROORGANISMOS

(54) TITULO DE LA INVENCION

CIRCUITO ELECTRÓNICO PARA SUMAR VOLTAJES, UTILIZADOS EN EXPERIMENTOS DE REGISTRO DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA DE NEURONAS CON TÉCNICAS COMBINADAS DE PATCH CLAMP Y DYNAMIC CLAMP

(57) RESUMEN:

Un circuito electrónico para sumar voltajes utilizados en experimentos de registro de la actividad eléctrica de neuronas con técnicas combinadas de patch clamp y dynamic clamp. Con el objetivo de manipular conductancias individuales en neuronas, se ha desarrollado un sumador de voltaje en paralelo que permite el uso simultáneo de un amplificador para registrar la actividad eléctrica de la célula al mismo tiempo que permite la implementación de la técnica de dynamic clamp. Esta última permite modificar, en tiempo real, las propiedades cinéticas de un canal iónico determinado y poder estudiar así el efecto que tiene en el comportamiento electrofisiológico de la neurona.

FIGURA MAS REPRESENTATIVA N°:

AR