

## NUEVO DISEÑO DE UN APARATO PARA EFECTUAR ELECTROFORESIS EN COLUMNAS DE GEL

BARBARÍN ARREGUÍN \*

### RESUMEN

Se describe un aparato para efectuar electroforesis en columna que presenta las ventajas de ser de fácil construcción, operación sencilla y muy eficiente en su funcionamiento.

### ABSTRACT

An apparatus is described for disc electrophoresis that has the advantage of being of easy construction and operation as well as very efficient in its functioning.

### INTRODUCCIÓN

La electroforesis en columna de gel, también conocida como electroforesis de disco (Tiselius, 1950; Ornstein, 1964; Holmes y Masters, 1968; y Ward, 1970) es un arma muy poderosa en el estudio de las proteínas ya sea para efectuar la separación de una mezcla de ellas como

para conocer su grado de pureza. La electroforesis también se emplea con mucho éxito en la separación de isoenzimas, obtención de zimogramas y determinación de pesos moleculares, siendo una gran ayuda para el trabajo del bioquímico.

### DESCRIPCIÓN

A continuación se describe un aparato que se ha empleado con éxito en estos laboratorios y que reúne los requisitos de facilidad de manejo, eficiencia y sencillez de construcción.

El aparato, construido de vidrio, consta de las partes siguientes (Fig. 1):

A) Un tubo de vidrio cerrado en sus extremos y al que se le han soldado unas juntas esmeriladas macho 14/20, en este ejemplo, 4 de ellas a las que además se les hizo un gancho de vidrio. Se le

sueda también un tubo de 10 mm de diámetro que va a ser el lugar por donde pasa uno de los electrodos de platino. A continuación, se corta longitudinalmente dejando la parte superior abierta.

B) Los tubos de electroforesis son unos refrigerantes; un extremo de los cuales tiene una junta esmerilada hembra 14/20 con un gancho que sirve para unirla, por medio de un resorte, con la junta macho del recipiente superior.

\* Instituto de Química de la UNAM, Torre de Ciencias piso 11, Ciudad Universitaria, México 20, D. F.

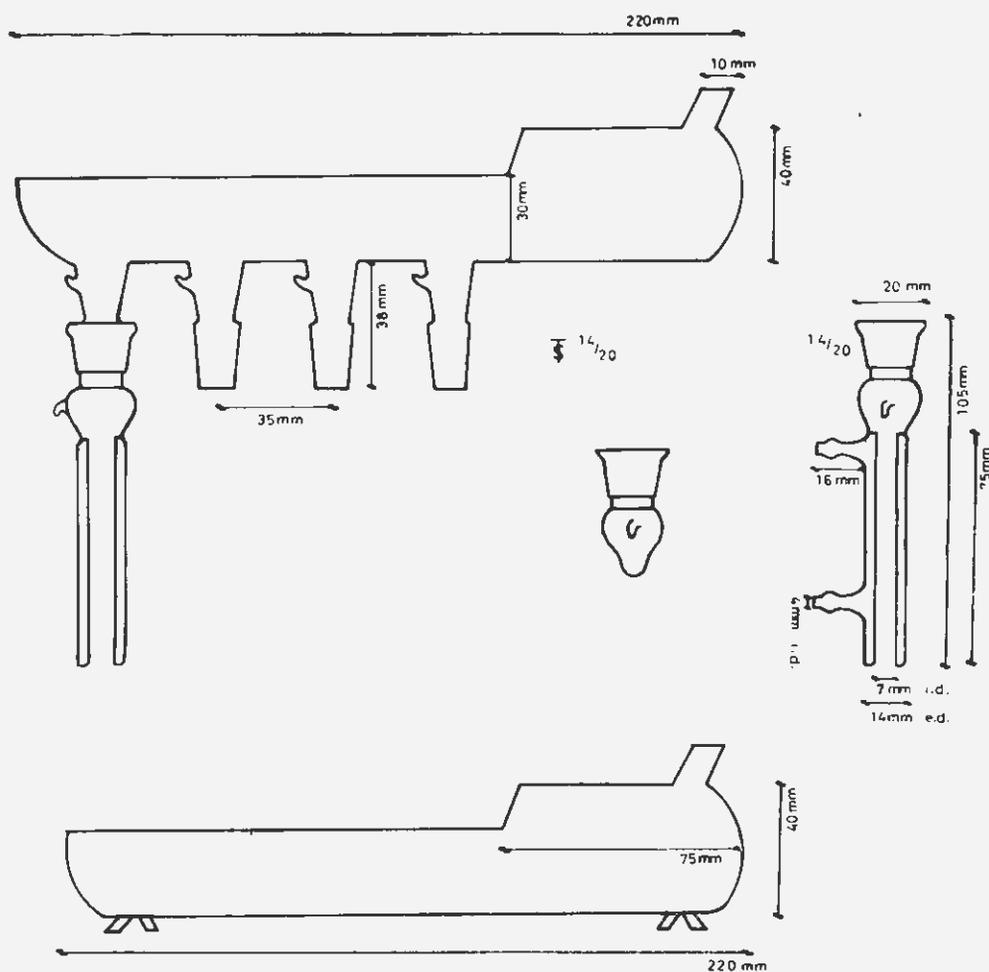


Fig. 1. Aparato de Electroforesis.

C) Es un recipiente para el otro electrodo, hecho con un tubo con una salida soldada para sostener el electrodo y después cortado en su parte superior.

Para ilustrar el funcionamiento se describe a continuación un experimento.

Los refrigerantes se encajan en sentido vertical en plastilina, que sirve de soporte y tapón. Se prepara del modo usual la poliacrilamida (Davis, 1964), se vierte en los refrigerantes y se deja hasta que se gelatiniza. Los refrigerantes se conectan a las juntas de la parte (A) previamente fijada a un soporte por medio de

unas pinzas de tres dedos. La cubeta de electroforesis (C), que sube o baja a voluntad por medio de un gato de laboratorio, se hace que haga contacto el líquido contenido en ella con la parte inferior de las columnas de poliacrilamida. El líquido, es una solución bófer de glicina-tris 0.01 M, pH 9.2.

El suero que se va a analizar, disuelto en una solución de sacarosa al 10%, se debe estratificar cuidadosamente por medio de una micropipeta sobre la columna del gel, cubierta con 1 cm de bófer. A continuación se agrega el colorante

marcador, como por ejemplo, una gota de azul de bromofenol, teniendo cuidado de no perturbar la muestra de proteína; se agrega a continuación la solución del bófer de modo que cubra el electrodo de platino que es un alambre de 1 mm de diámetro por 10 cm de largo y un extremo del cual sale por el tubo de 10 mm de diámetro.

Los refrigerantes que contienen las columnas de poliacrilamida se conectan en serie con un refrigerador recirculante para poder mantener la temperatura baja y evitar que la proteína se desnaturalice.

A continuación se inicia la electroforesis (en este caso suero de *Hevea brasiliensis*) a 350 V y 1.5 mA por tubo, interrumpiendo la operación antes de que el azul de bromofenol marcador salga de las columnas.

Los tubos se colocan en un recipiente con agua y con la ayuda de una aguja larga de acero inoxidable se desprenden de las paredes y luego se tiñen durante 1 hora en una solución de amido negro en ácido acético al 8% y otra hora en una solución de ácido acético al 3%.

La eliminación del amido negro de los geles (excepto en donde reaccionó con la proteína), se efectúa en el aparato que se describe a continuación (Fig. 2).

Este aparato consta fundamentalmente de dos cilindros de plástico acrílico (D) y (E), maquinados a partir de un cilindro sólido de plástico con las dimensiones y forma que aparecen en la Figura 2.

El cilindro (D) tiene unas ranuras de 0.5 mm que permiten el paso de líquido pero evitan que los geles se salgan por ellas. La parte (D) tiene un canal anular en donde se coloca un "O ring" de neopreno que tiene el objeto de hacer un cierre hermético, como si fuera un tapón, con el cilindro (E), el cual tiene dos orificios diametralmente opuestos en donde, a través de dos taponos hechos de teflón maquinados en un torno, pasan un tubo de vidrio en forma de S que sirve para regular la altura del líquido en el recipiente (E) y otro tubo doblado en ángulo recto en donde se encuentra uno de los electrodos y que sirve además de entrada a la solución desteñidora (ácido acético al 3%), que se deja gotear a la velocidad necesaria y evitar así el calentamiento.

Para operar el desteñidor, en el recipiente (E) se coloca la solución desteñidora estando el pico de vidrio en S en sentido vertical. El cilindro (E) se fuerza, embutiéndolo en (D), haciendo que el líquido se desplace hacia arriba a través de las ranuras. Se colocan los geles en las ranuras del cilindro (D) y en la parte superior de los geles ya cubiertos con la solución desteñidora, se coloca el otro electrodo de platino. En el experimento con el suero de *Hevea brasiliensis* se emplearon 600 V y 30 A, lográndose el desteñido en 3 horas.

En la figura 3 se muestran los resultados obtenidos al separar el suero de *Hevea brasiliensis*. Las fracciones I a V sólo daban un componente protéico en cromatografía en columna empleando Sephadex G-200.

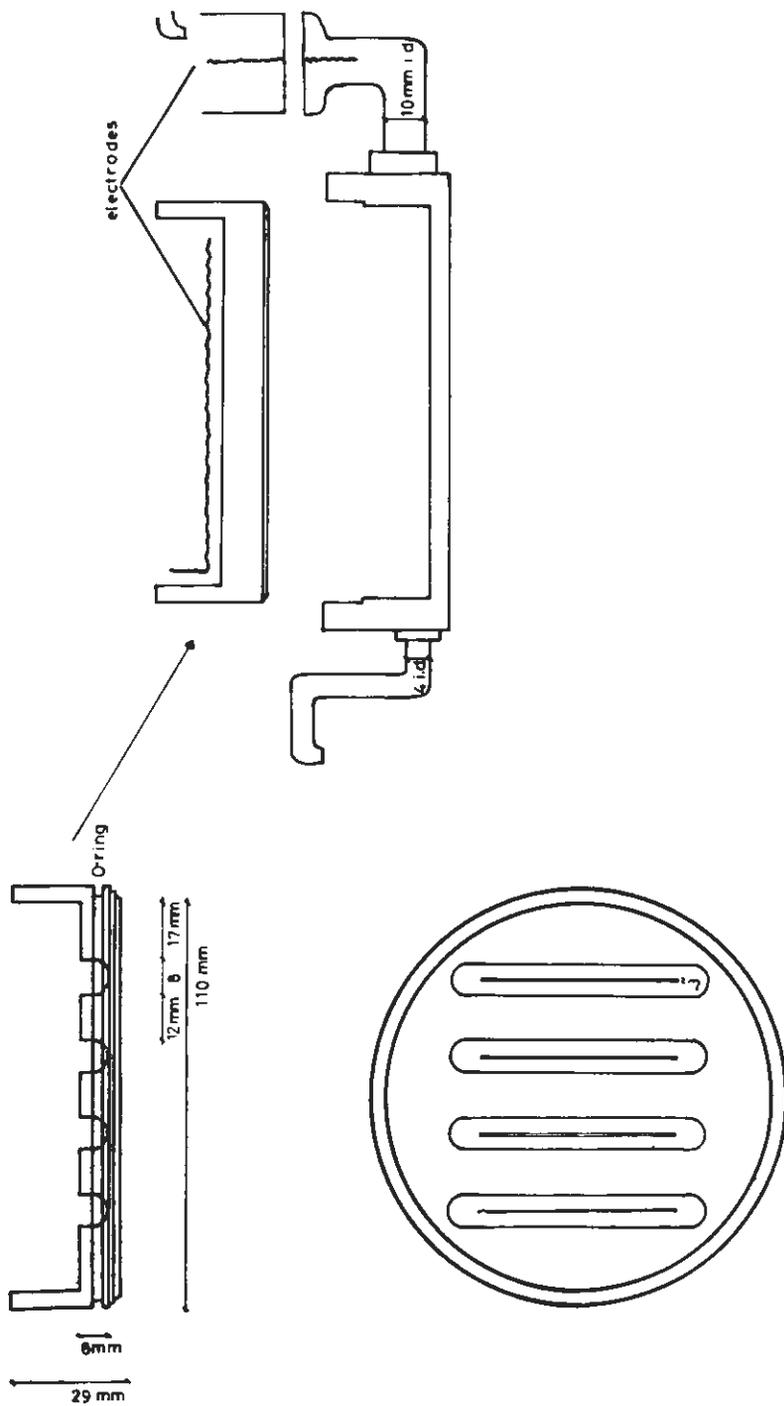


Fig. 2. Aparato Desteñidor.

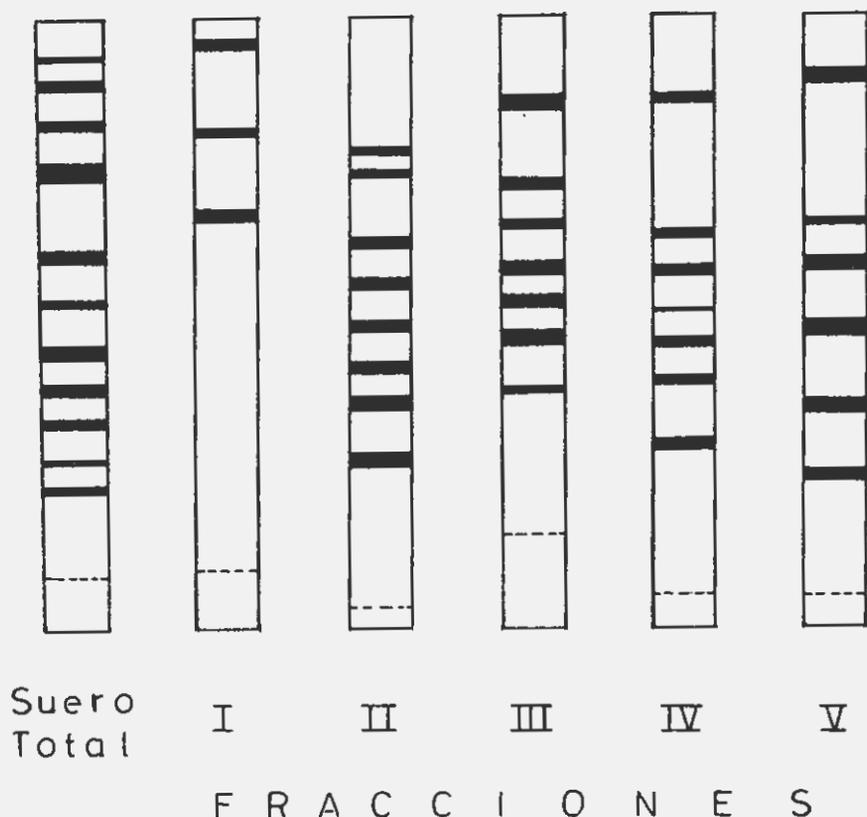


Fig. 3. Resultados de una Electroforesis. S. T. Suero total de *Hevea Brasiliensis*. Los números romanos corresponden a fracciones obtenidas previamente del suero total por filtración en Sephadex 200. La línea punteada nos muestra el frente alcanzado por el colorante marcador.

#### LITERATURA

- DAVIS, BARUCH, J., 1964. Disc Electrophoresis II. Method and Application to Human Serum Proteins. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 121: 404-427.
- HOLMES, R. S. y MASTERS, C. J., 1968. A Comparative Study of The Multiplicity of Mammalian Esterases. *Biochim. Biophys. Acta*, 151: 147-158.
- ORNSTEIN, L., 1964. Disc Electrophoresis I. Background and Theory. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 121: 321-349.
- TISELIUS, A., 1950. Electrophoresis and Adsorption-analyse als Hilfsmittel zur Untersuchung Hochmolekularer Stoffe und ihrer Zerfallsprodukte (Novel-Vortrag Dez 13, 1958) *Naturwiss.* 37: 25-33.
- WARD, S., 1970. An Improved Transverse Destaining Apparatus for Acrylamide Gels. *Anal. Biochem.* 33: 259-262.