

DEPARTAMENTO: Química Biológica  
ASIGNATURA: Electroforesis. Aplicaciones Biológicas y Clínicas. Isoelectroenfoque.  
Isotacoforesis.

CARACTER: Post-Grado.

DURACION: 5 noviembre al 18 noviembre 1985.

HORAS DE CLASE: Teóricas: 15, Problemas: 5 Trabajos Prácticos: 25

PROGRAMA

ELECTROFORESIS - LIBRE - ISOELECTROENFOQUE - ISOTACOFORESIS.

TEMA 1

Nociones básicas electroforesis libre y en medio soporte características físicoquímicas del medio. Sistemas buffers, sistemas de anfolitos. Sistemas con iones lentos y rápidos isotacoforesis. Sistemas con flujolibre.

TEMA 2

Teoría general del enfoque isoambiente, enfoque isoclutrico, isomagnético, isopicnico, isodielectrico e isoconductorio.

TEMA 3

Físicoquímica del isoelectroenfoque. Anfolitos transportadores o carrier, su acción sobre el gradiente de p H, teoría del gradiente natural de p H, conductividad, capacidad buffer, peso molecular y absorción en el ultravioleta. Síntesis de anfolitos transportadores síntesis clásica de Vesterberg, y otras, Righetti, Vinogradon, Charlionet y Just. Sistemas buffers, con capacidad en anfolitos transportadores.

TEMA 4

Medios soportes. Agarosa; preparación propiedades, características físicoquímicas, y en especial por isoelectroenfoque. Poliacrilamida, componentes, agentes de entrecruzamiento y catalizadores; regulación de la acción del tamizado molecular, pero medio. Acetato de celulosa como medio soporte en isoelectroenfoque.

TEMA 5

Equipamiento para isoelectroenfoque. Células horizontales y verticales adecuadas al empleo de geles de agarosa poliacrilamida con anfolitos carrier. Construcción de las mismas para isoelectroenfoque, analítico o preparativo. Fuentes de poder, parámetros críticos, potencia constante, intensidad haras - voltio. Refrigeración del sistema, su importancia límite de aplicabilidad.

TEMA 6

Aplicaciones del isoelectroenfoque al sistema de geles de poliacrilamida en agarosa. Geles en placa delgada horizontal, vertical y en tubos geles granulados por adición de sephadex. Técnicas analíticas y preparativas.

## TEMA 7

Separaciones por isoelectroenfoque de distintos materiales biológicos, aplicaciones bromatológicas, detección de sustituciones proteicas en alimentos, carnes y vegetales - diferenciación de especies animales, por isoenzimas de lactico dehidrogenasas y esterasas.

Aplicaciones Clínicas.

Separación del suero humano en diversas disproteinemias, paraproteínas con componente H, cirrosis, nefrosis y tumores.-

Aplicaciones Forenses

Identificación de hemoglobinas y enzimas de importancia forense

## TEMA 8

ISOTACOFORESIS.- Sus principios. Equipos. Aplicaciones en sistemas biológicos e inorgánicos, separación de aniones y cationes de importancia, en medicina, farmacología y bromatología.

## TEMA 9

Electroforesis en flujo libre. Sus principios. Equipos, aplicaciones a la separación, células rojas y blancas de la sangre y médula ósea. Células de distintos tejidos previamente tratados. Separación de parásitos y estructuras subcelulosas.

### TRABAJOS PRACTICOS:

- 1) Manejo de instrumental y aparatos para su fraccionamiento en gel de agarosa, poliacrilamida y acetato de celulosa.  
Construcción de células electroforéticas.
- 2) Preparación de placas horizontales de agarosa poliacrilamida con anfolitos.
- 3) Técnica de fraccionamiento de proteínas volubles del músculo de carne vacuna, cerdo y ave, por isoelectroenfoque.
- 4) Proteínas de alimentos vegetales, harina de soja.
- 5) Separación de proteínas del suero humano.
- 6) Técnicas diferenciales de coloración, secuencial.

### BIBLIOGRAFIA.

- Electroforesis aplicaciones biológicas y Clínicas. Castagnino J.M. Eudeba 1968.
- Isotacphoresis. The separation of aminoacidos. Jof. Cromatog. 53-315-1970 Evaerest
- The principle of prepentive Capillary. Isotachophoresis. Electroforesing e Isotachophoresis.  
Walter Grujter Berlin. New York. Ed. B.J. Radole and D.Graessling 505-1977.