

UNIVERSIDAD DEL SURESTE

Licenciatura en Medicina Humana

Biología Molecular.

Trabajo:

Electroforesis de proteína en orina.

Docente:

Q. Hugo Nájera Mijangos.

Alumno:

Mario Alberto Gordillo Martinez.

Semestre y Grupo:

4° "A"

**17Comitán de Domínguez, Chiapas 17 de Noviembre del
2020.**

ELECTROFORESIS DE PROTEINAS EN ORINA

Se necesita una muestra de orina limpia, este método se utiliza para evitar que los microbios del pene o de la vagina ingresen a la muestra de orina. Para recoger la orina, el proveedor de atención médica puede suministrarle un equipo especial para tomar la muestra limpia que contiene una solución de limpieza y toallitas estériles.

Normalmente no hay proteína, o solo se encuentran en pequeñas cantidades en la orina. Una cantidad anormalmente alta de proteína en la orina puede ser una señal de muchos trastornos diferentes, la EFPO se puede recomendar para ayudar a determinar la causa de proteínas en la orina. O se puede hacer como una prueba de detección para medir las diversas cantidades de diferentes tipos de proteínas en la orina. La EFPO detecta 2 tipos de proteína: albúmina y globulinas.

Los resultados normales de la EFPO, no se encuentra ninguna cantidad significativa de globulinas en la orina. La albúmina urinaria es menor de 5 mg/dl, los rangos de los valores normales pueden variar ligeramente entre diferentes laboratorios. Algunos laboratorios usan diferentes medidas o examinan diferentes muestras. Hable con su doctor acerca del significado de los resultados específicos de su examen

En el proceso de la electroforesis se realizará la separación de las proteínas a analizar, de acuerdo a su peso molecular. Dicha distribución dependerá de la concentración del gel de resolución con el que se esté trabajando. En el laboratorio colocarán, la muestra en un papel especial y le aplicará una corriente eléctrica. Las proteínas se movilizan y forman bandas visibles. Esto revela las cantidades generales de cada proteína.

Procedimiento:

1. Todo el procedimiento requiere el uso de guantes a fin de evitar la degradación de las moléculas por la acción de las proteasas presentes en la mano.
2. Sumergir el sistema conteniendo los geles polimerizados en un tanque conteniendo buffer de electroforesis o de resolución para proteínas 1X. Dicho tanque lleva dos electrodos: uno positivo y otro negativo (frecuentemente representados por colores rojo y negro, respectivamente) que serán conectados a una fuente poder (Figuras N° 1 y 5). Al momento de sumergir los geles en el tanque, asegurarse que los pocillos del gel estén totalmente cubiertos por el buffer.
3. Mediante el uso de puntas de hasta 20 μ L y 30 μ L de capacidad proceder a depositar cuidadosamente la muestra en los pocillos evitando la contaminación del pocillo contiguo.
4. Considerar el uso de un marcador estándar de proteínas para la medición del peso molecular de la muestra. Dicho marcador debe ser sometido a los mismos tratamientos de la proteína, excepto cuando se trate de un marcador previamente teñido en que el que se obviará el uso del buffer de la muestra.

5. Una vez finalizada la colocación de las proteínas en cada pocito del gel, cubrir el tanque con la tapa y conectar los cables correspondientes de los electrodos en la fuente de poder.
6. Encender la fuente de poder y proceder a seleccionar el voltaje y amperaje correspondientes.
7. Para el cálculo del voltaje es importante conocer la distancia en centímetros del gel desde la parte superior hasta la parte inferior de la matriz. La distancia multiplicada por voltios (8V - 15 V) permitirá determinar el voltaje total. El voltaje óptimo dependerá de la naturaleza de la molécula de ADN que se piensa separar, en consecuencia, se recomienda estandarizar este procedimiento.
8. El valor del amperaje o corriente eléctrica (medida en amperios o miliamperios) dependerá de la fuerza iónica del buffer. En el caso de trabajar con buffer Tris-Glicina 1X (Ver solución stock, Anexo A), el valor recomendado es de 25 a 30 miliamperios. 15 instituto Nacional de Salud Manual de procedimientos de electroforesis para proteínas y ADN MPR-CNSP-016
9. Realizar la electroforesis hasta que el frente de corrida (visualizado como una línea azul por el colorante del buffer) haya llegado a los límites de la parte inferior del gel.
10. Finalizada la electroforesis proceder al desmontaje del equipo empezando con desconectar los electrodos de la fuente de poder ya apagada y removiendo el sistema que contiene el gel de poliacrilamida.
11. Levantar lentamente uno de los espaciadores de tal manera que se vaya realizando la separación de los vidrios que contienen el gel.
12. Separar el gel de
13. Hacer una pequeña muesca en una de las esquinas del gel, a fin de que sirva de orientación para ubicar el orden en que fueron cargadas las muestras.
14. Remover el gel. Para realizar este proceso se requiere de mucho cuidado pues el gel es muy frágil y puede romperse con facilidad especialmente cuando se seca o es de baja concentración. Para desprender el gel del vidrio remojarlo nuevamente con buffer de electroforesis o agua destilada y usar uno de los espaciadores a manera de espátula para levantarlo por una de las puntas. Coger el gel cuidadosamente (usar guantes) y luego sumergirlo en un envase conteniendo el colorante azul brillante de coomasie.
15. El buffer de electroforesis puede ser devuelto a su frasco original para su posterior uso, pudiendo ser reciclado hasta cinco veces, después de los cuales se deberá preparar una nueva solución dado que puede afectar el tiempo de corrida de la prueba.
16. Los vidrios, los espaciadores y el tanque deberán ser lavados con abundante agua y detergentes especiales que puedan ser fácilmente removidos. Posteriormente, enjuagarlos con agua destilada y secarlos a temperatura ambiente o en una estufa a 37°C

Fuentes de información:

Recuperado de <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003589.htm#:~:text=El%20examen%20de%20electroforesis%20de,ciertas%20prote%C3%ADnas%20en%20la%20orina.>

Recuperado de <https://www.cancer.org/es/cancer/mieloma-multiple/deteccion-diagnostico-clasificacion-por-etapas/pruebas.html>