

TÉCNICAS DE SEPARACIÓN PROTEÍNAS	PURIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS	CUANTIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS.
<p>La proporción de las fracciones proteicas individuales cambia en el transcurso de un gran número de enfermedades lo que conlleva que, la cuantificación de las mismas sea de valor considerable en el diagnóstico clínico. Los procedimientos más utilizados actualmente en el laboratorio clínico para el estudio de las proteínas son los siguientes:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Turbidimetría y nefelometría 2. Inmunodifusión 3. Electroforesis 4. Inmunolectroforesis 5. Inmunolectroforesis en cohete 6. Inmunofijación 7. Cromatografía 	<p>Una purificación de proteínas es una serie de procesos que permiten aislar un solo tipo de proteína de una mezcla compleja. La purificación de proteínas es vital para la caracterización de la función, estructura interacciones de la proteína de interés, por ejemplo una enzima un receptor celular o un anticuerpo. El material inicial es generalmente un tejido biológico o un cultivo microbiano. Hay varios pasos en el proceso de purificación; puede liberar a la proteína de la matriz que lo confina, separar las partes proteica y no proteica de la mezcla, y finalmente separar la proteína deseada de todas las demás. Este último paso puede ser el aspecto más laborioso de la purificación de proteínas.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Homogeneización 2. Fraccionamiento celular 3. Desnaturalización reversible con sulfato de amonio 4. Cromatografía 5. Electroforesis 6. Diálisis 7. Espectroscopia ultravioleta-visible 8. Ensayo enzimático 	<p>La cuantificación de proteínas es un paso importante en el control de calidad durante el flujo de trabajo de la biología molecular, para asegurar que los pasos siguientes entreguen resultados certeros. La Espectrofotometría con micro volúmenes le permite a los trabajadores del laboratorio estudiar materiales proteómicos de las muestras en volúmenes muy pequeños, lo que a su vez, permite preservar aquellas muestras que son más valiosas.</p> <p>La medición de la concentración de una proteína soluble, es un ensayo vital en la investigación bioquímica en los laboratorios y sus aplicaciones pueden ir desde estudios de enzimas hasta la entrega de información para la fabricación en lote de productos farmacéuticos. La cuantificación de proteínas con Espectrofotometría es un método que usa la luz ultravioleta y la espectroscopía visible para determinar de manera rápida la concentración de proteínas. Utilizando un Espectrofotómetro UV-VIS, se puede obtener una cuantificación precisa del ADN, ARN y proteínas utilizando solo 1 a 2 µL de muestra. Este equipo también permite analizar muestras de proteínas como parte del control de calidad de un lote e incluso como precursor previo a reacciones adicionales, cuantificar el contenido proteico en muestras e identificar contaminantes que puedan impactar de manera adversa los experimentos subsiguientes.</p> <p>Tanto para cuantificar, como para calificar proteínas, se pueden usar técnicas de medida directas e indirectas, siendo destacada la aplicación Protein A280, la que calcula la concentración de proteínas basándose en la absorción de la muestra en 280 nm y el coeficiente de extinción específico de la proteína y su longitud de onda. Para las medidas indirectas, se puede utilizar un colorímetro.</p>

