

## ELECTROFORESIS DE PROTEINAS EN PAPEL DE FILTRO

### II. — *Obtención de gráficos de concentración a partir de las bandas de electroforesis sobre papel de filtro.*

Por ATILIO A. DREWES

En un trabajo anterior se describió un equipo y la técnica correspondiente a la realización de electroforesis sobre papel, dicha técnica de muy simple desarrollo, se dificulta cuando a sus resultados cualitativos, se les desea relacionar cuantitativamente.

La mayoría de los autores de trabajos en esta técnica han propuesto medios para transformar la electroforesis sobre papel en un método cuantitativo. Así Kunkel y Tisellius proponen recortes en zonas muy pequeñas del papel de filtro y extraer de él el colorante fijado por adsorción y luego leer el contenido del mismo por colorimetría, otra técnica utilizada por los mismos autores consiste en utilizar el producto de extracción de las distintas zonas de la banda como material para practicar la reacción de Folín. Ambas técnicas muy laboriosas ofrecen la posibilidad de obtener un gráfico similar al que se obtiene por electroforesis libre.

Después de realizado el sistema que aquí se presenta obtuve información del trabajo de Grassman y col. (2), quienes tiñen con negro amida 10 B la banda de papel y luego de secarla la impregnan con una mezcla de aceite de parafina y bromonaftaleno con un índice de refracción de 1,51; el papel de filtro así tratado es translúcido, y es fijado este en placas de vidrio planas y observada su transparencia en cada zona, en un aparato que describen como un fotocolorímetro, compensado a dos fotocélulas en oposición, y que se ofrece comercialmente en Alemania.

El sistema aquí propuesto utiliza elementos simples y el fotómetro de Beckman, sus resultados son muy interesantes.

### *Descripción del sistema de lectura*

Una vez obtenido y revelado el papel de filtro, muestra una serie de bandas azules transversales a la banda de papel en un espacio de 4 a 5 cm., cuando la duración de la electroforesis ha sido de 2 a 3 horas, esta banda de papel se corta en forma de una cinta de 13 mm. de ancho por 10 cm. de largo, que se fija por sus extremos con "celotape" a una ventana de 12 mm. por 6 cm. practicada a un dobledecímetro de plástico negro, como se ve en la (Fig. 1); así soportada la banda de papel deberá presentarse milímetro a milímetro frente a una hendidja vertical, a través de la cual pasa el haz luminoso del espectrofotómetro.

Con este objeto se ha creado un complemento al fotómetro (Fig. 2) constituido por una tablilla de madera de 2 cm. de espesor y con el largo y alto igual a la cámara porta muestras del fotómetro, a la que va a sustituir en el fotómetro Beckman, igualmente coinciden los orificios de fijación y la ventana para el paso del haz de luz monocromática una ranura permite deslizarse por la misma la regla, tal cual se observa en la figura 3; en el frente de la ventana en el lado opuesto a la guía de la regla, se dispone una hendidja de 1 cm. de alto por 0,8 a 1 mm. de ancho de cantos muy afilados que limitará el haz de luz a lo necesario para explorar por vez, solo un pequeño ancho de la banda coloreada.

Dispuesto este complemento entre la fuente de luz y la celda fotoeléctrica, en lugar de la cámara porta cubetas del fotómetro, se la fija de la misma manera que estaba esta, tal como se ve en la Fig. 4. Un guión se fija a la caja guía, de tal manera que marque sobre la zona milimetrada de la regla, la posición relativa de la misma frente a la hendidja, así al mover la regla hacia adentro milímetro a milímetro, la banda coloreada lo hará frente a la hendidja.

### *Lectura fotométrica*

Dispuesta la regla como se describió, con la banda de electroforesis revelada en la guía del complemento creado al Beckman; se enciende el mismo y se elige hendidja y amplificación de tal manera que la zona incolora al principio de la banda posea una  $e^{-0,100}$  con una longitud de onda de 520 m. u. Luego se va introduciendo milímetro a milímetro la regla y se van efectuando las lecturas anotando la extinción correspondiente a cada posición. Con los datos así obtenidos se construye un gráfico que posee, en ordenadas las lecturas de ex-

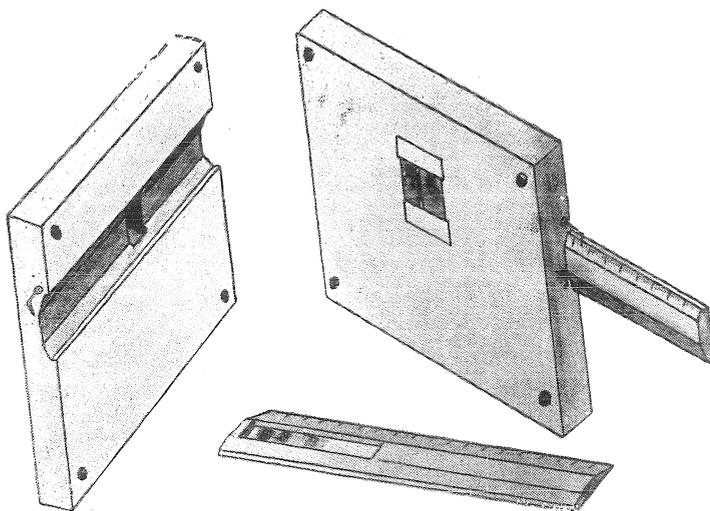


Fig. 1. — Puede apreciarse el block que sustituye al porta muestras del espectro-fotómetro, al pie el doble decímetro tras cuya ventana se fija el papel de filtro que posee el desarrollo electroforético. En el block de la derecha puede apreciarse la hendidura de que se le ha provisto para limitar el haz de luz.

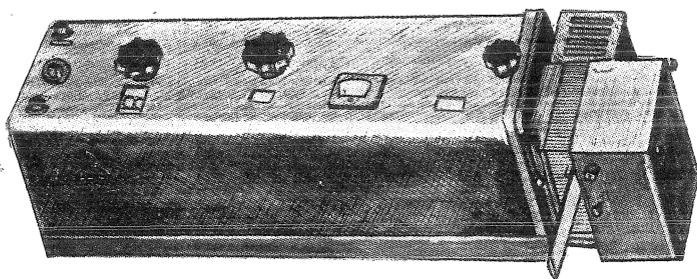


Fig. 2. — En la figura puede apreciarse la posición del block de lectura.

### LECTURA FOTOMETRICA

Dispuesta la regla como se describió, con la banda de electroforesis revelada en la guía del complemento creado al Beckman; se enciende el mismo y se elige hendidura y amplificación de tal manera que la zona incolora al principio de la banda posea una  $e=0,100$  con una longitud de onda de  $520 m\mu$ , luego se va introduciendo milímetro a milímetro la regla y se van efectuando las lecturas anotando la extinción correspondiente a cada posición. Con los datos así obtenidos se construye un gráfico que posee, en ordenadas las lecturas de extinción y en abscisas las lecturas en milímetro de la regla graduada. (Fig. 3).



Fig. 3. — En repetidos ensayos se ha observado las características que presenta este suero de pollo, siendo la más notable el fraccionamiento de la albúmina y la gamma globulina.

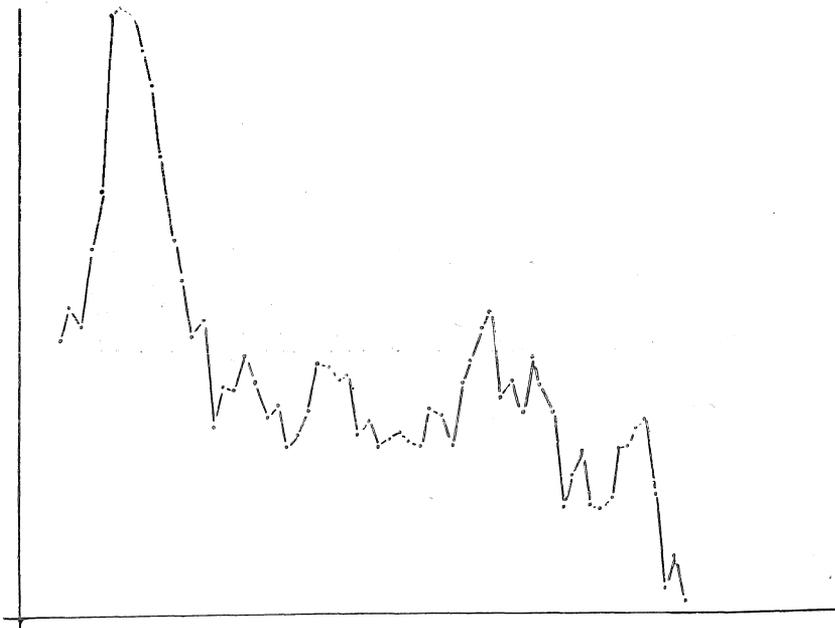


Fig. 4. — Gráfico correspondiente a un suero de embrión de pollo de 19 días; obsérvese la notable alineación correspondientes a los puntos que definen la albúmina.

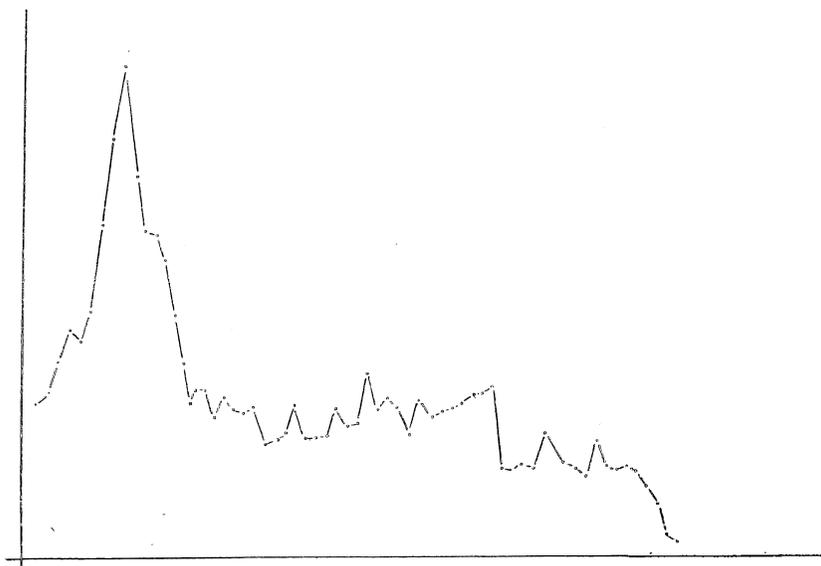


Fig. 5. — Gráfico correspondiente a suero de embrión de pollo de 19 días igual que en el gráfico 4 pueden observarse dos inflexiones en la curva que se repiten, corresponden a la albúmina.

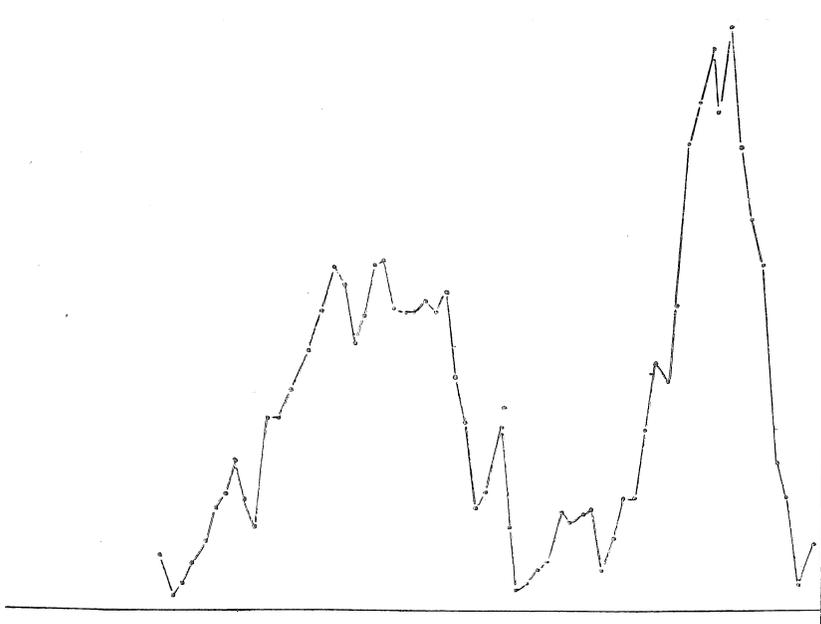


Fig. 6. — Como en los casos anteriores este suero corresponde a embrión de pollo de 19 días, en la fracción albúmina, aquí a la derecha, se observa también una inflexión junto a la alfa 1 globulina.



tinción y en abcisas las lecturas en milímetros de la regla graduada. (Fig. 5).

Este sistema resulta muy útil para reconocer fracciones en un suero; y el estudio detallado de los gráficos en forma comparativa contra testigos de composición conocida, ofrecen un excelente medio cuantitativo. Para ello es indispensable cuidar escrupulosamente la medición de las cantidades de muestras utilizadas con la micropipeta (Figs. 4, 5 y 6).

### RESUMEN

Con el título de "Electroforesis de proteínas en papel de filtro. II. Parte"). Se describe un complemento creado al espectrofotómetro de Beckman destinado a la lectura de concentración relativa de las bandas coloreadas obtenidas por electroforesis en papel, y la forma en que se usa el mismo en la Sección Virus del Instituto Malbrán.

### SUMMARY

Whith the title of "Proteins electrophoresis on filter papel. (Part-II)", is described an addition made for the Beckman Spectrophotometer which is used for the relative concentration readings of the tinted bands, obtained by electrophoresis on paper and the manner it is employed in the Virus Department of the Malbrán Institute.

### BIBLIOGRAFÍA

- 1) KUNKEL, H. G., TISELIUS, A. — *J. Gen. Physiol.*, 1951, 35, 89.
- 2) GRASSMANN, W., HÄNNING, R., KNEDEL, M., *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 1951, 76, 353.