



XXVII Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CA-040 (ID: 2419)

Autor: Delgado, María Belén

Título: Proteinograma canino con colorante Rojo Ponceau

Director: Koscinczuk, Patricia

Co-Director: Deluca, Gerardo Daniel

Palabras clave: electroforesis, caninos, proteinograma, ponceau

Área de Beca: Cs. Agropecuarias

Tipo Beca: Cyt - Perfeccionamiento

Periodo: 01/04/2020 al 01/04/2023

Lugar de trabajo: Facultad De Cs. Veterinarias

Proyecto: (17B002) Enfermedades transmitidas por vectores, gamapatías mono y policlonales, identificación del agente causal en medicina veterinaria.

Resumen:

Una de las formas de separación y visualización de las proteínas es la electroforesis. Este método se basa en separar las proteínas por medio de un campo eléctrico. Para un sistema particular de electroforesis, el voltaje se mantiene constante al igual que el pH y la fuerza iónica del medio de suspensión. De este modo se obtienen distintos grupos de proteínas en forma de bandas, que una vez teñidas da lugar a una imagen de las diferentes fracciones proteicas, que es lo que se denomina proteinograma. La electroforesis de suero (proteinograma) permite separar electroforéticamente las proteínas del suero en fracciones bien diferenciadas (albúmina, alfa 1, alfa2, beta y gamma). La razón principal para realizar una electroforesis de proteínas séricas es descubrir una paraproteína o discrasia de células B. Una irregularidad en la región gamma puede deberse a una pequeña banda monoclonal, cadenas ligeras libres o IgG oligoclonal. Otros hallazgos de importancia clínica incluyen un aumento de las globulinas alfa-1 y alfa-2 indicativas de una respuesta de fase aguda, una disminución de las globulinas alfa-1 que sugiere una deficiencia de alfa-1 antitripsina (A1AT), un aumento en la región beta-1 que sugiere un aumento de la transferrina y la deficiencia de hierro, un aumento policlonal en las gammaglobulinas que indica inflamación o infección o enfermedad hepática. El objetivo de este trabajo fue obtener el tiempo, voltaje y amperaje de migración que permitan la óptima visualización de las proteínas del suero canino con colorante de Rojo Ponceau. Se trabajó con suero canino congelado (-18°C). Para la electroforesis se colocaron las tiras de acetato de celulosa gelificado de origen comercial Progel® en la solución de Buffer veronal-veronal sódico, pH = 8,6 durante 10 minutos. Luego se secaron con un papel absorbente para eliminar el exceso de buffer y se extendieron sobre el puente de la cuba electroforética con la superficie activa penetrable por las proteínas hacia arriba (corresponde a la superficie opaca de la tira). El suero utilizado fue descongelado a 37° a baño maría, luego se lo dejó reposar a temperatura ambiente durante 15 minutos. La siembra de la muestra se realizó con capilar (3 ul) dibujando una línea recta paralela al borde inferior (catódico) a aproximadamente 1.5 cm del mismo. Se realizaron 3 corridas probando voltajes y tiempos diferentes. La primera se realizó a un voltaje de 150 y 2,5 mA durante 30 minutos, la segunda a 140 Vol, 2,5 mA y 30 minutos y la tercera a 140 Vol, 2,5 mA durante 25 minutos. En todos los casos la coloración fue realizada con rojo Ponceau-S durante 15 minutos (0,5 gr en 100 ml de Acido Tricloroacético 5%) al retirar las tiras del colorante fueron lavadas durante 5 minutos en agua destilada, y se decoloraron con una solución de ácido acético 5% (ácido acético glacial 5ml en agua destilada 95 ml) los lavados suficientes como para que el fondo quede blanco y se visualicen bien las bandas de proteínas. Para este estudio se utilizó una cuba de electroforesis horizontal para acetato de celulosa y fuente de poder JY300 regulable 300 Vol Arcano®. En la primer corrida electroforética realizada las bandas no pudieron ser visualizadas ya que la intensidad de la corriente hizo que las proteínas migraran más rápido por el alto voltaje. En la segunda corrida tampoco pudieron ser visualizadas las bandas, si bien el voltaje utilizado fue menor el tiempo se mantuvo; en cambio en la tercer corrida fue en donde se observó la mejor separación y visualización de las bandas. En el presente trabajo, la óptima visualización de las bandas de proteínas en suero canino fueron las que se efectuaron durante un tiempo de 25 minutos a 140 Voltios y a 2,5 Miliamper. Llama la atención que, a diferencia de lo observado en otras especies (bovinos, llamas, ñandúes y equinos), el suero canino presenta similitud en cuanto a su movilidad electroforética con el suero humano. Teniendo en cuenta los resultados de este trabajo y lo descripto por De Vega (2009 y 2011), las proteínas del suero canino pueden migrar a un menor Voltaje y tiempo que las proteínas séricas de otras especies animales.