

**SOLUCIÓN AL
PROBLEMA BIOQUÍMICO**
*Estimación del peso molecular de
una proteína por electroforesis en
un gel de poliacrilamida H*

Unidad de Bioquímica H

SOLUCIÓN AL PROBLEMA BIOQUÍMICO

ESTIMACIÓN DEL PESO MOLECULAR DE UNA PROTEÍNA

POR ELECTROFORESIS EN GEL DE POLIACRILAMIDA

SOLUCIÓN DEL PROBLEMA

- 1) Consultar la imagen analizada (Fig. 3) para las mediciones obtenidas de las distancias de migración de las proteínas.

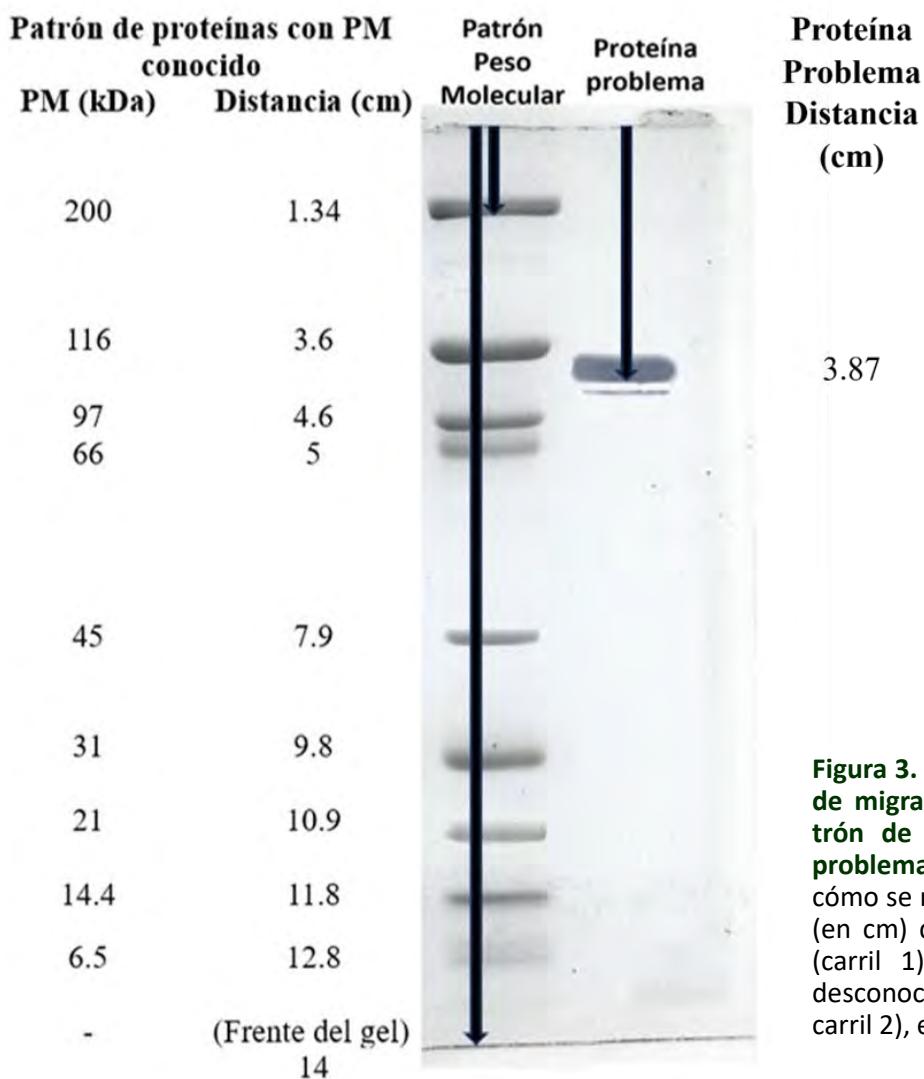


Figura 3. Determinación de la distancia de migración de las proteínas del patrón de referencia y de la proteína problema. En esta figura se muestra cómo se midió la distancia de migración (en cm) de las proteínas de referencia (carril 1) y de la proteína con PM desconocido (proteína problema en carril 2), en el gel de poliacrilamida.

2)

$$Rf_1 = \frac{1.34}{14} = 0.0957 \quad Rf_2 = \frac{3.6}{14} = 0.2571 \quad Rf_3 = 0.3285 \quad Rf_4 = 0.3571$$

$$Rf_5 = 0.5642 \quad Rf_6 = 0.7 \quad Rf_7 = 0.7785 \quad Rf_8 = 0.8428$$

$$Rf_9 = 0.9142 \quad Rf_{Proteina\ problema} = 0.2764$$

3) Consultar la tabla elaborada con los valores de Rf de las proteínas de referencia y los valores de \log_{10} PM de dichas proteínas (Tabla 1).

Patrón de proteínas de peso molecular conocido			
Migración (cm)	Eje X Movilidad relativa (Rf)	Peso molecular (kDa)	Eje Y \log_{10} PM
1.34	0.0957	200	2.30
3.6	0.2571	116	2.06
4.6	0.3285	97	1.98
5	0.3571	66	1.81
7.9	0.5642	45	1.65
9.8	0.7000	31	1.49
10.9	0.7785	21	1.32
11.8	0.8428	14.4	1.15
12.8	0.9142	6.5	0.81

Tabla 1. Valores de migración de las proteínas de referencia (en cm), su movilidad relativa (Rf), su peso molecular (en kDa), y el logaritmo en base 10 de dichos pesos moleculares.

4) Consultar la gráfica de \log_{10} PM vs Rf (Fig. 2) y la ecuación de dicha gráfica.

5) Cálculo del PM aproximado de la proteína problema:

$$\log PM = -1.6035Rf + 2.4854 \quad \log PM = -1.6035 (0.2764) + 2.4854$$

$$\log PM = 2.0421 \quad \mathbf{PM = 110.3\ kDa}$$

6) Se conoce que el peso molecular promedio de un residuo de aminoácido dentro de una cadena polipeptídica es 110 Da, por lo que multiplicando dicho valor por el número de aminoácidos que componen a la proteína SERCA2 se obtiene lo siguiente:

$$1043 \text{ aminoácidos} \left(\frac{110 \text{ Da}}{1 \text{ aminoácido}} \right) = 114.7 \text{ kDa}$$

Comparando este valor de PM calculado matemáticamente (114.7 kDa) con el obtenido de manera experimental por la técnica de SDS-PAGE (110.3 kDa), se puede decir que este último se encuentra en el rango de exactitud ($\pm 10\%$) mencionado en el artículo de Weber y Osborn (5).

7) Debido al tamaño del gel separador que corresponde al de una Miniprotean de BioRad™ se tiene una resolución menor de las bandas respecto a un gel con mayor distancia de migración en donde las bandas del patrón de proteínas se separarían más, lo que mejoraría el comportamiento de los datos en la gráfica de \log_{10} PM vs Rf. Además, factores como la fuerza del campo eléctrico, fuerza iónica, viscosidad y temperatura del medio ambiente, pueden afectar la correcta separación de las proteínas de referencia en el gel. Sin embargo, ésta es una buena aproximación para determinar el PM de una proteína problema ya que el coeficiente de correlación fue de 0.9542.



REFERENCIAS

1. Sheehan D (2009) Physical Biochemistry: Principles and applications. John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, UK, p 147-198.
2. Manns JM (2011). SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) of proteins. Current Protocols in Microbiology, 22:A.3M.1-A.3M.13
3. Gallagher SR (2012). SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). Current Protocols Essential Laboratory Techniques, 6:7.3.1-7.3.28.
4. Montalvo CA, Lugo MA (2019) Electrophoresis: Fundamentos, Avances y Aplicaciones. EPISTEMUS Ciencia, Tecnología y Salud (13): 48-54.
5. Weber K, Osborn M. (1969). The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis Journal of Biological Chemistry 244(16):4406-4412.