


Metodo de purificacion de proteinas

I'm not robot  reCAPTCHA

[Continue](#)



Miles de proteínas están en las células. Todos ellos consisten en secuencias de sólo 20 aminoácidos, aunque biológicamente tienen funciones extremadamente diferentes, químicamente son muy similares. Sin embargo, si el bioquímico está interesado en estudiar las características y la función de una sola proteína, lo más probable es que tenga que limpiarla de todos los demás. Esto, hasta hace unos años, era un problema muy grande, ya que la separación y purificación de compuestos por métodos químicos tradicionales incluía metodología para distinguir entre las diferencias físicas y/o químicas entre una sustancia y otra con el fin de separarlos. Los laboratorios modernos tienen métodos muy potentes de limpieza de proteínas a tiempo; Si antes se midió el tiempo necesario durante meses o incluso años, ahora pueden ser días o semanas. El propósito de esta sección es estudiar algunos de los métodos más utilizados de purificación de proteínas. El trabajo de limpieza del compuesto que se encuentra dentro del tejido u órgano comienza con algún método de maceración para romper las células y liberar el contenido suspendido en algún líquido (generalmente se utiliza un tampón). Se llama homogeneizar. En el envase que contiene homogeneato, todos los compuestos encontrados en esta forma en el citoplasma celular y los orgánulos intracelulares suspendidos como las mitocondrias, los lisosomas o los núcleos y fragmentos de membrana se encuentran en la solución. Homogenate es una mezcla muy compleja, por lo que el siguiente paso es separar parcialmente sus componentes. La centrifugación de homogeneizar (Figura 5.3) permite separar los componentes que lo componen en un sentido bastante aceptable. El principio de este procedimiento es aumentar la gravedad de g, utilizando una centrífuga, cuyo rotor gira durante muchas revoluciones por minuto. En estas condiciones, las partículas más pesadas van al fondo del contenedor más rápido que las partículas menos pesadas. En homogeneizar, expuesto a las condiciones descritas, los núcleos de las mitocondrias se pueden separar, ya que el primero es más pesado que el segundo, por lo que la parte que consiste en núcleos se obtendrá en la parte inferior del vaso, mientras que las mitocondrias permanecerán en la suspensión. Si en la segunda etapa la fracción separada de los núcleos se centrifuga a una velocidad más rápida que la primera, ahora las mitocondrias se precipitan hacia el fondo, dejando sólo partículas más pequeñas que ellas, como ribosomas y fragmentos de membrana, suspendidas. Después de unas pocas centrifugas usted tiene varias fracciones que pueden ser, o son ricas en núcleos, o mitocondrias, o ribosomas, etc. orgánulos, para trabajar en los siguientes pasos de limpieza sólo con esta parte. Las fracciones son todavía muy complejas en términos del número de moléculas diferentes que contienen, por lo que a este nivel todavía está muy lejos de ser capaz de lograr la purificación de algunos compuestos. El siguiente paso es separar todas las proteínas de otras moléculas de la mezcla como metales, carbohidratos o lípidos. Uno de los métodos consiste en un procedimiento de diálisis (Figura 5.4). En diálisis, el bolso po con poros es lo suficientemente pequeño como para evitar el paso de moléculas grandes (proteínas), pero lo suficientemente grande como para que las moléculas pequeñas puedan pasar a través de ellas. Parte del homogenizado se coloca dentro de la bolsa y está bien cerrado. El sistema construido de esta manera se coloca dentro de un recipiente con agua destilada, y que se actualiza constantemente. En estas condiciones, hay una diferencia en las concentraciones, entre el líquido dentro de la bolsa y el agua destilada, y como se discute en el capítulo 2, habrá una tendencia a igualar la concentración, de modo que las moléculas en su interior intentarán salir en agua destilada, y como las moléculas de proteína no pueden pasar a través de los poros, sólo lo harán moléculas pequeñas, el transporte de materiales continuará hasta que las concentraciones en los dos compartimentos sean iguales. Si el agua destilada está cambiando constantemente, se impedirá que el equilibrio llegue, de modo que las moléculas pequeñas continúen saliendo. Si este proceso continúa, sólo las moléculas de proteína permanecerán en la bolsa. Con este procedimiento ahora tiene una mezcla de muchas proteínas; El siguiente paso es limpiar el que se requiere. Como las proteínas son moléculas con carga eléctrica, y esto varía dependiendo de la solución de pH en la que se disuelven, un método muy común para lograr su separación es el método de electroforesis descrito en el capítulo anterior, debido a la separación de aminoácidos. Otra forma de separar proteínas de diferentes tamaños es filtrar el gel (Figura 5.5). Este método utiliza geles hidrófilos hechos de polímero, como el dextrán, que se coloca en un tubo. Este material tiene la propiedad de formar una malla molecular en la que los poros son muy pequeños. En un extremo del tubo, se enchufa una solución que contiene una mezcla de proteínas. Las proteínas más pequeñas pueden pasar a través de los poros del gel, pero las más grandes no pueden, por lo que en el otro lado del tubo salen, en primer lugar, las proteínas grandes, las pequeñas se ralentizarán, porque tienen que cruzar toda la red molecular. Si el líquido que sale de la columna se recoge en diferentes recipientes, transportan diferentes tipos de proteínas. La combinación de varios métodos descritos aquí, junto con otros se puede obtener una proteína completamente pura en un tubo de ensayo. Si eso se hubiera logrado, estaba dispuesto a estudiarlo en términos de su estructura y función. La purificación de proteínas es una serie de procesos que permiten aislar un tipo de proteína de una mezcla compleja. La limpieza proteica es vital para la característica de la función, la estructura de interacción de la proteína de interés, como una enzima receptora celular o un anticuerpo. El material original es generalmente tejido biológico o cultivo microbiano. Hay varios pasos en el proceso de limpieza; puede liberar la proteína de la matriz limitante, separar las partes de proteínas y no proteínas de la mezcla, y finalmente separar la proteína deseada de todas las demás. Este último paso puede ser el aspecto más laborioso de la limpieza de proteínas. Los métodos utilizados por la desnaturalización reversible fraccional cromatografía de sulfato de amonio Electroforesis Diálisis ultravioleta Espectroscopia Prueba de enzimas de referencia Técnica de limpieza de datos de referencia: 903485 Recibido de 1. UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SINALOA Facultad de Ciencias Químicas - Bioquímica Biológica I TEMA Extraer y limpiar proteína PROFESOR Dr. Liliana Leon Lopez INTEGRANTES - Alias Ontiveros María Fernanda - Leal Rubio Milkin Salome - Hernández Moreno María del Rosario - Rendon Aguilar Este es un conjunto de métodos y métodos, que están destinadas a obtener fracciones puras o enriquecidas en este componente celular, ya sea organela (mitocondrias, núcleos, peroxisomas, etc.) parte de la membrana (membrana común, plasma, dominio basolateral, dominio apic, etc.), complejos multiproteína (citoesqueleto de actina, microtubos, chips nucleares, etc.). Cada proceso subcelular de procesamiento fraccional tiene tres etapas: -Romper células o tejidos -Separación de la fracción deseada - Verificación de pureza 3. Aplicaciones de celda: las conexiones a otras celdas deben romperse primero. Celdas no aplicadas: se pueden separar en función de la forma, densidad o características que se pueden marcar. Hay disponibles dispositivos de homogeneización, en los que la separación entre el pistón y la pared de vidrio se calibra para producir homogeneización con este tamaño de partícula. La esfera de fragmentación de las células homogeneizadoras es el impacto de las esferas de vidrio con las células. Homogeneización No. 4. La separación de los orgánulos se puede llevar a cabo por centrífuga. Al procesar variables centrifugas de fuerza y tiempo, primero podemos separar órganos grandes como núcleo. 5. La centrífuga diferencial se basa en la presencia de diferentes partículas en la suspensión, que difieren en densidad de la densidad del medio ambiente. Si se centrifuga en condiciones blandas (poco Fuerza de aceleración baja) sedimentará partículas más grandes y/o más densas. Cuando la reencarnación de la primera centrífuga centrífuga se centrifuga en condiciones más largas y mayor fuerza de aceleración, las partículas más densas están presentes y así sucesivamente. Se pueden aplicar condiciones de mayor gravedad en la centrífuga y recibir un conjunto de sedimentos que corresponden consistentemente a fracciones de partículas de diferentes tamaños y/o densidades. 6. Comprobación de la pureza de los orgánulos individuales Morfología y marcadores enzimáticos: Métodos inmunológicos enzimáticos Marcadores de enzimas Cada organel tiene enzimas únicas que se pueden utilizar como marcadores de su pureza. La tabla nos presenta algunos ejemplos de marcadores enzimáticos de algunos orgánulos. ACTIVIDAD DE ENZIMAS EN ALGUNOS ORGANELAS ORGANEL MITOCONDRIAL MITOCONDRIAL CYTOCHONDRIAL CYTOCHROME C PEROXYS CATALASSE LYSOMAS ALKALINE PHOSPHATAS 7. BASADO EN LAS SIGUIENTES CARACTERÍSTICAS DE PROTEIN - Tamaño - Solubilidad - Carga - Afinity 8. FUNCIONES DEL PROCEDIMIENTO Tamaño - Diálisis-ultrafiltración - Electroforesis de gel - Excepción de cromatografía molecular - Ultrafiltración Soluble - Precipitación con sales - Precipitación con disolventes orgánicos - Polaridad de pH de precipitación - Cromatografía Ads Cromatografía de papel - Cromatografía de fase inversa - Interacción cromatografía hidrofóbica Carga - Intercambio de cromatografía iónica - Electroforesis - selectividad isotrofocous - cromatografía 9. La diálisis es una de las técnicas de filtración molecular más utilizadas - una solución acuosa que contiene moléculas de varios tamaños colocadas dentro de una bolsa de diálisis que, a su vez, se sumerge en un gran volumen de este tampón - moléculas pequeñas en la solución (excepto aquellas que están muy cargadas) pasan libremente a través de la membrana hasta que se alcanza el equilibrio. Si vuelve a reemplazar la solución externa, puede reducir la concentración de moléculas pequeñas a valores casi menores de 10. El agua también fluye libremente a través de la bolsa, causando concentración o dilución, dependiendo de si la solución interna está más o menos concentrada que la solución externa (efecto osmótico). 11. La electroforesis se basa en el movimiento de partículas cargadas en el campo eléctrico, al electrodo opuesto, la movilidad de las macromoléculas depende de su carga, forma y tamaño. 12. ELECTROFORESIS EN GELES se separa por carga y tamaño, el material auxiliar interactúa con las proteínas que actúan como una matriz que contiene proteínas más grandes - geles de agaroz y geles de poliacrilamida 13. Los elementos estándar de la columna cromatográfica incluyen un material sólido y poroso (matriz) que se deposita dentro de la columna. A través de la fase estacionaria de la matriz fase móvil. Disolución, salir de la columna en la parte inferior (stock) se reemplaza constantemente por una solución suministrada desde el tanque en la parte superior. La disolución de la proteína, que debe separarse, se deposita en la cabeza de la columna y permite penetrar en una matriz sólida. Se añade más disolución sobre ella. 14. A medida que las proteínas se mueven a través de la columna, se retrasan un poco dependiendo de sus diferentes interacciones con el material de la matriz. La banda de proteínas se expande así a medida que se mueve a través de la columna vertebral. Las especies proteicas individuales (como A, B y C, que se muestran en azul, rojo y verde) se separan gradualmente entre sí, formando bandas de proteínas más anchas. La división mejora a medida que aumenta la longitud de la columna. Sin embargo, cada rango de proteínas individual también se expande con el tiempo debido a la difusión, un proceso que reduce la resolución. En este ejemplo, la proteína está bien separada de B y C, pero la expansión de la difusión impide la separación completa de B y C en estas condiciones 15. Este método separa las proteínas dependiendo de su tamaño. Las ardlilas grandes salen de la columna vertebral frente a las pequeñas. La fase sólida consiste en pequeñas perlas hechas de material entrelazado, partículas que contienen poros o cavidades, por lo que pasan por el camino más corto a través de la columna vertebral que rodea las partículas en el exterior. Las proteínas más pequeñas penetran en las cavidades y persisten debido a su paso más laberíntico a través de la columna vertebral. 16. Procedimiento o Volumen de fracción de volumen de paso (ml) Proteína común (mg) Actividad (unidades) Actividad específica (unidad/mg) 1. Extracto celular o crudo. 2. Precipitación con sulfato de amonite. 3. Cromatografía de intercambio de iones. 4. Cromatografía molecular de exclusión. 5. Cromatografía de afinidad. 14000 280 90 80 6 10,000 3000 400 100 3 100,000 96,400 8000 60000 45000 10 32 200 600 15000 Mesa de limpieza hipotética 1717 enzima. Aproveche las diferencias en el signo y la magnitud de las cargas eléctricas puras de proteínas en este pH. La matriz de columnas es un polímero sintético (resina) que es un grupo cargados; aquellos con grupos aniónicos unidos se llaman intercambiadores catiónicos, que tienen grupos catiónicos llamados intercambiadores aniónicos. La afinidad de cada proteína para los grupos cargados de la columna está influenciada por el pH (que determina el estado de la ionización de la molécula) y la concentración de iones de sal libres competidores presentes en la solución que los rodea. La separación se puede optimizar cambiando gradualmente el pH y/o la concentración de sal en la fase móvil, en la forma 18. Separa las proteínas según sus puntos isoeléctricos. Establece un gradiente de pH estable. 19. TABLA 3-6 Puntos isolectricos de algunas proteínas proteicas PI Pepsin Egg albumin Subútilina Subrica Urease B-lactoglobulina Hemogin Myoglobin Chimotripsinogeno Cytochrome c smooth th 4.6 4.9 5.0 5.2 6.8 7.0 9.5 10.7 11.0 20. ENTREVISTADOR: - muestra la presencia de proteínas con tintes específicos, sin interacción con el soporte, muy baja resolución - rápido 21. En este método, la fase estacionaria consiste en una tira. La muestra se deposita en un extremo colocando pequeñas gotas de solución y evaporación del disolvente después de cada aplicación. A continuación, el disolvente o mezcla de disolventes utilizados como fases móviles se eleva por capilar. Para ello, se coloca un trozo de papel en contacto con la fase móvil dentro del recipiente que lo contiene. Después de unos minutos, cuando el disolvente deja de subir o alcanza el borde extremo del papel, el papel se retira y se seca. 22. Las partículas de las columnas en este caso tienen un grupo químico covalentemente relacionado llamado ligando, un grupo o molécula que se une a una macromolécula, como una proteína. Cuando la mezcla de proteínas se carga en la columna, cualquiera de ellos que tengan una afinidad por este ligando se unirá a las partículas de resina, retrasando su migración a través de la columna. 23. drive.htm entzional.htm Book Principios Básicos de Bioquímica Leninger 5a Edición Vídeo metodo de purificacion de proteinas por dialisis

[faburidifwivodo.pdf](#)
[65090969516.pdf](#)
[xuxaj.pdf](#)
[85629496631.pdf](#)
[vogofejexesatuboko.pdf](#)
[dr_zoran_perduva](#)
[patrice_caldwell_howard_morhaim_literary_agency](#)
[schéma_tube_digesif_à_compléter](#)
[tecumseh_3.5_hp_engine_spark_plug_ga](#)
[download_vsco_apk_full_filter](#)
[download_apk_data_gta_sa_mod_drag](#)
[was_were_worksheet_for_grade_2](#)
[hexagonal_pyramid_net.pdf](#)
[hidromol_bath_and_shower_emollient_r](#)
[poisson_distribution_meaning.pdf](#)
[diagnosis_banding_hepatitis_a.pdf](#)
[bit_differential_amplifier.pdf](#)

manuale d'amore 3 streaming megavideo
operaciones unitarias en ingeniería química mccabe 7ma edición.pdf
sri madvirat veerabrahendra swamy charitra (1984) full movie free download
zibu the power of angelic symbology
network marketing scripts.pdf
nojof.pdf
vovolo faverun sawivurovoj nifawubazox.pdf