

NOTA

DISEÑO Y CONSTRUCCION DE UNA FUENTE DE PODER PARA ELECTROFORESIS

Rodolfo Téllez González

Instituto Mexicano del Petróleo
Subdirección de Tecnología de Explotación
División de Geofísica
Av. E.C.L. Cárdenas No. 152 C.P. 07730
México, D.F.

Gerardo Zúñiga Bermúdez

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN
Depto. de Zoología, Lab. de Genética
Prol. de Carpio y Plan de Ayala
C.P. 11340, Col. Sto. Tomás
México, D. F.

La realización de estudios genético-poblacionales, orientados a revelar y analizar la variación genética existente en las poblaciones naturales, se ha retrasado en latinoamérica por la falta de métodos seguros y técnicas eficientes, que identifiquen a los diferentes loci génicos y sus variantes alélicas.

La utilización de diversas técnicas bioquímicas como la inmunodifusión, la hibridación del ADN, la electroforesis, la secuenciación de proteínas, parecen ser la mejor forma de identificar loci génicos variables en las poblaciones naturales y por consiguiente sería adecuado, acelerar e incrementar este tipo de estudios (Awise, 1974; Berlocher, 1984).

La electroforesis es la técnica más ampliamente utilizada en los estudios genético-poblacionales (Richardson *et al.* col., 1986; Pasteur, *et al.* col., 1987). La incorporación de la técnica, por su cualidad analítica y sintética, el área de la biología evolutiva en los años sesentas (Hubby, 1963; Hubby y Throckmorton, 1965; Hubby y Lewontin, 1966; Lewontin y Hubby, 1966), el bajo costo de su realización comparado con otras técnicas bioquímicas y su fácil reproducción,

la han convertido en la metodología de uso común en el análisis de la estructura genética de las poblaciones.

El procedimiento básico de la electroforesis se muestra en la figura (1). El proceso incluye una matriz formada por almidón, acrilamida, papel o alguna otra sustancia capaz de suministrar un soporte homogéneo. En esta matriz, se colocan muestras de proteínas extraídas con soluciones reguladoras de tejidos tales como músculo esquelético, plasma sanguíneo, humor vítreo o bien macedos completos del organismo o de algún otro tejido. La infiltración de las muestras a la matriz puede ser directa o bien a través de piezas de papel filtro saturadas con la mezcla de proteínas. El número de muestras analizadas en un corrimiento simple puede variar de 10 a 50 según el tipo de electroforesis.

La migración y separación de las proteínas solubles en la muestra se realiza, al pasar una corriente eléctrica a través de la matriz por un tiempo determinado. La separación y la velocidad de migración depende de varios factores, como son, entre otros, la carga eléctrica de los aminoácidos que integran la proteína, el tipo de matriz y el grosor de la misma, la fuerza iónica y la composición de las soluciones reguladoras que se utilizan para elaborar la matriz. De esta manera, las proteínas con carga eléctrica positiva migran hacia el polo negativo (cátodo) y las proteínas con carga eléctrica negativa migran hacia el polo positivo (ánodo). Por último, una vez que las proteínas han migrado, se determina la posición de las mismas, aplicando una tinción específica para la proteína que se estudia, que es generalmente una enzima.

Dos aspectos son clave en la realización de la electroforesis: primero, una parte fisicoquímica, que comprende a las soluciones reguladoras utilizadas en la elaboración de la matriz y a las soluciones electrolíticas encargadas del intercambio de iones y del flujo de cargas a través del sistema; segundo, una parte eléctrica relacionada con el suministro de corriente y voltaje necesarios para la separación de las proteínas.

De esta manera, el presente trabajo muestra a los interesados el diseño y la construcción de una fuente de tensión regulada para electroforesis, capaz de generar la corriente eléctrica necesaria para separar proteínas (Fig.2). Hoy en día, los altos costos de estos aparatos, hacen prácticamente imposible tener acceso a ellos. Sin embargo, es posible construirlos a precios bajos (250-300 Dlls/unidad) con partes totalmente nacionales. El aparato ha sido probado en estudios realizados en el Laboratorio de Genética de la E.N.C.B., encaminados a determinar la variación genética en las poblaciones naturales del género *Dendroctonus* (Erickson) y otros insectos.

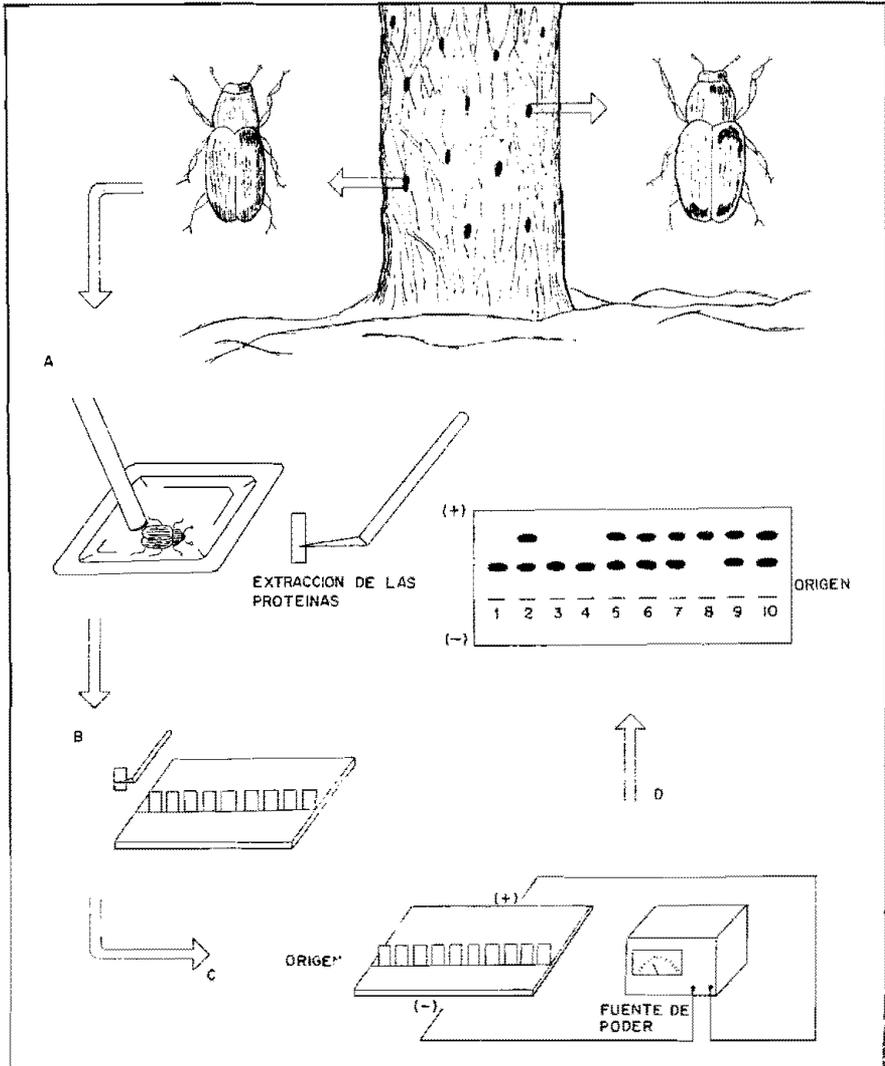


Fig. 1 Procedimiento básico para obtener datos genotípicos por la técnica de electroforesis. (A) Extracción de las muestras a partir de tejidos específicos o macerados completos de los organismos. (B) Infiltración individual de las muestras a la matriz (gel). (C) Separación diferencial a través del gel, de las diferentes formas de una proteína por diferencias en su carga neta. (D) Identificación de las formas protéicas por métodos de tinción específicos y elaboración de los zimogramas correspondientes.

DESCRIPCION DE CIRCUITO

El circuito (Fig.3) consta de una fuente de tensión no regulada, formada por T1, T2, B1 y C1. T1 se ocupa para elevar el voltaje de línea (117v C.A.) a una tensión aproximadamente igual al máximo voltaje de salida que se desea regular (600v aprox.).

T2 tiene como propósito variar el voltaje de salida proporcionado por T1 para que cambie de un valor máximo de 600Vp aproximadamente 0 volts, cuando se varía la relación de vueltas de su primario con respecto a su secundario. Esta señal es rectificadora en onda completa por el puente de diodos B1 y C1 la filtra para que en el punto A se obtenga una señal de corriente directa (C.D.).

Q1, Q2, R1, R2, Rz y Z1 forman la fuente de tensión regulada (regulador de voltaje). Q1 se encarga de proporcionar la corriente necesaria a la carga "L", según la requiera ésta, así como servir de elemento de control. Q2 forma el amplificador y comparador de error, mientras que Z1 y Rz forman la referencia, en tanto que R1 y R2 forman el elemento de muestra del voltaje.

Q2 se elige de forma que sea capaz de soportar una tensión entre colector y emisor tal que exceda cuando menos el 50% del valor máximo de voltaje que se desea regular. El criterio de selección está basado en función del grado de confiabilidad que se le quiere dar a la fuente y por supuesto del presupuesto.

Este transistor se utiliza como un amplificador de diferencia entre el voltaje de referencia V_{ref} y el voltaje de muestra V_s proporcionado por el divisor de tensión formado por R1 y R2. Estas resistencias se diseñan de tal manera que la relación $R1/R1 + R2$ tienda a la unidad, para compensar las variaciones por efecto de temperatura del diodo de unión base-emisor del transistor Q2, así como para asegurar que el voltaje de muestra tomado en el intervalo de variación del voltaje de salida (cuando se ajusta mediante T2), se encuentre dentro del punto de operación del diodo Z1, es decir, $V_{ref} = V_s$.

Rz se calcula en este caso, para proporcionar la corriente adecuada de zener cuando se obtiene el máximo voltaje de salida. El circuito incluye dos medidores para monitorear tanto la corriente como el voltaje de salida.

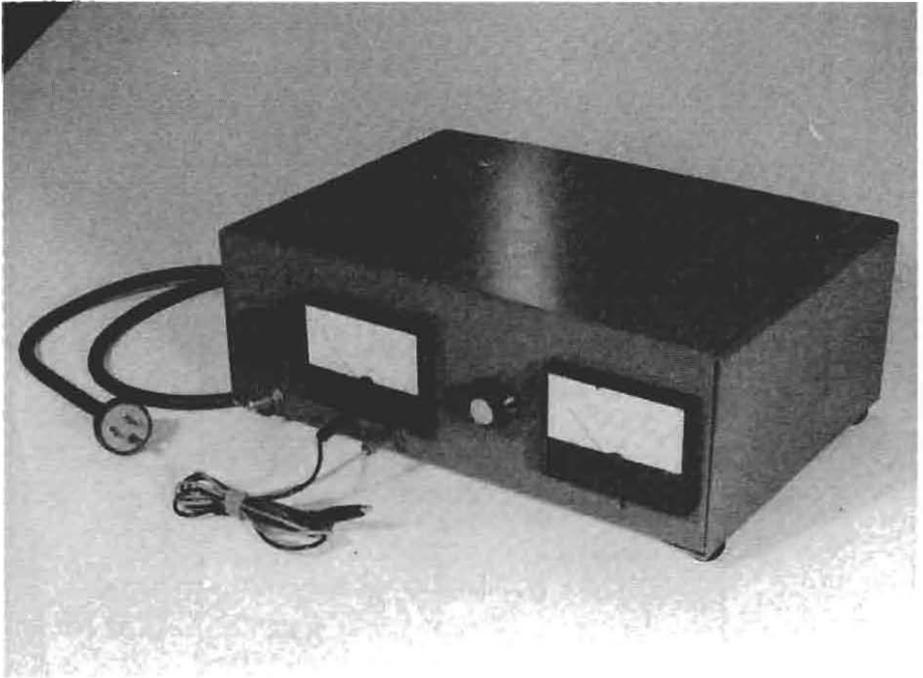


Fig. 2 Fuente de poder para electroforesis.

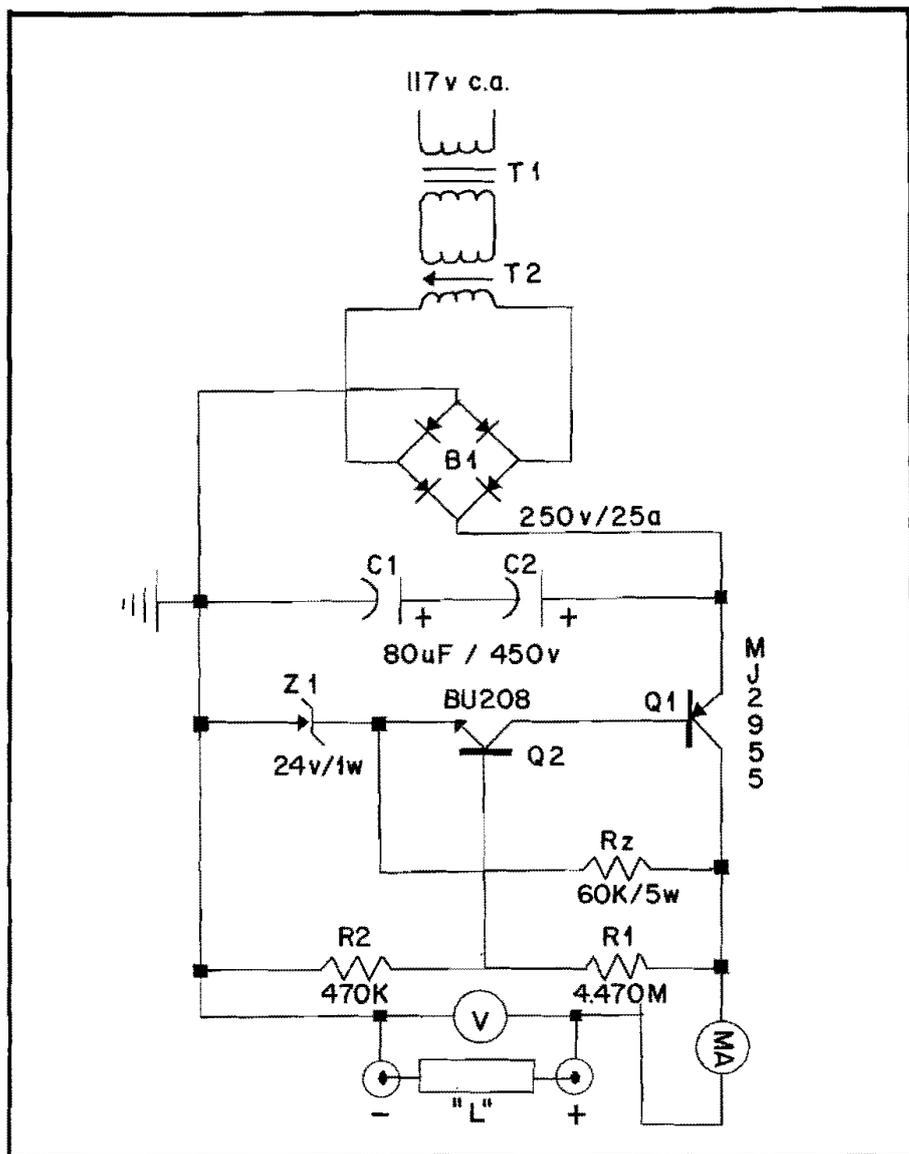


Fig. 3 Diagrama eléctrico de la fuente regulada de tensión para electroforesis.

CARACTERISTICAS

VOLTAJE DE ENTRADA:	117 V \pm 10%
FRECUENCIA DE ENTRADA:	60 Hz \pm 0.5%
VOLTAJE DE SALIDA:	0 V - 700 v C.D.
CORRIENTE DE SALIDA:	300 mA máx.
% DE REGULACION A LA LINEA:	1. %
% DE REGULACION A LA CARGA:	0.08%
INTERVALO DE TEMPERATURA DE OPERACION:	0 °C - 65 °C
PESO APROXIMADO:	8 Kg
DIMENSIONES:	35 cm X 18 cm X 12 cm

AGRADECIMIENTOS

Nuestro más sincero agradecimiento para las siguientes personas, integrantes del Laboratorio de Genética, por su colaboración en la construcción del aparato: Yolanda Salinas M.; Blanca E. Rodríguez M.; Ramón Cisneros B. y Roberto Ramírez D.

El trabajo es una contribución al proyecto: Variación Genética en Poblaciones Naturales del Descortezador *Dendroctonus mexicanus* Hopkins (Col: Scolytidae), del Consejo del Sistema Nacional de Educación Tecnológica (COSNET) clave 585.86

LITERATURA CITADA

AVISE, J.C. 1974. Systematic Value of Electrophoretic Data. *Syst. Zool.* 23:465-481.

BERLOCHER, H.S. 1984. Insect Molecular Systematic. *Ann. Rev. Entomol.* 29:403-433.

HUBBY, J.L. 1963. Protein Differences in *Drosophila* I. *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 48:871-879

HUBBY, J.L. y L. H. THROCKMORTON. 1965. Protein Differences in *Drosophila* II. Comparative Species Genetics and Evolutionary Problems. *Genetics* 52:203-215.

HUBBY, J.L. y R.C. LEWONTIN. 1966. A Molecular Approach to the Study of Genetic Heterozygosity in Natural Populations. I. The Number of Alleles of Different Loci in *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 54:577-594.

LEWONTIN, R.C. y J.L. HUBBY. 1966. A Molecular Approach to the Study of Genetic Heterozygosity in Natural Populations. II. Amount of Variation and Degree of Heterozygosity in Natural Populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 54:595-609.

PASTEUR, N., F. BONHOMME, J. CATALAN y J. BRITTON-DAVIDIAN. 1987. Manuel Technique de Génétique par Electrophorèse des Protéines. *Tec. Doc.* Paris, Francia.

RICHARDSON, B.J., P.R. BAVERSTOCK y M. ADAMS. 1986. *Allozyme Electrophoresis: A Handbook for Animal Systematics and Populations Studies.* Academic Press. Australia pp. 410.