

O4

**DIRECT DETECT - Sistema revolucionario para la
cuantificación de biomoléculas**

Javier Sánchez-García

MERK Millipore, Nottingham, NG9 2JR, UK

javier.sanchez-garcia@merckgroup.com

El Direct Detect representa una innovación en la cuantificación de biomoléculas. Midiendo directamente uniones amida en cadenas de proteínas, DD determina con seguridad los componentes intrínsecos de cualquier proteína sin tener en consideración la composición de aminoácidos

La Espectroscopia Infrarroja (EIR) es una de las técnicas más antiguas y mejor establecidas en el análisis de la estructura de polipéptidos y proteínas. Es fácil de usar ya que requiere una mínima preparación de la muestra y puede ser llevada a cabo en una amplia variedad de condiciones.

EIR aprovecha el hecho de que las moléculas absorben frecuencias específicas que son características de su estructura. La estructura proteínica primaria está formada por una cadena larga de enlaces de aa que están representados por nueve áreas de absorción de IR. Para determinar las concentraciones de proteínas, la tecnología basada en IR del DD utiliza la banda amida I, que está asignada a la vibración del enlace C=O del péptido.

En minutos, y sin ningún marcado biológico o inmuno-químico, se puede determinar directamente en la muestra no diluida, la concentración de proteínas en un rango extremadamente amplio que va desde 0,2mg/ml hasta más de 20mg/ml.

Adicionalmente, la cuantificación de los enlaces amida no está afectada por interferencias de muchos de los componentes también habituales, como detergentes, agentes reductores o quelantes. Esto permite la cuantificación directa de proteínas sin la necesidad de hacer Bradford, BCA u otros ensayos de colorimetría.