



*1821 Universidad de Buenos Aires*

## **Resolución Consejo Directivo**

**Número:** RESCD-2024-1746-E-UBA-DCT#FCEN

CIUDAD DE BUENOS AIRES

Viernes 18 de Octubre de 2024

**Referencia:** EX-2022-03406440- -UBA-DMESA#FCEN - POSGRADO - Sesión  
07/10/2024

---

### **VISTO:**

La nota presentada por la Dirección del Departamento de Química Biológica, mediante la cual eleva la información del curso de posgrado **Técnicas Electroforéticas. Fundamentos y Aplicaciones (DOC8800169)** para el año 2025,

### **CONSIDERANDO:**

lo actuado por la Comisión de Presupuesto y Administración,

lo actuado por este Cuerpo en la sesión realizada en el día de la fecha 07 de octubre de 2024,

en uso de las atribuciones que le confiere el Artículo 113° del Estatuto Universitario,

**EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD  
DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

## **R E S U E L V E:**

**ARTÍCULO 1°:** Aprobar el dictado del curso de posgrado **Técnicas Electroforéticas. Fundamentos y Aplicaciones (DOC8800169)** de 70 horas de duración, que será dictado por la Dra. Daniela Vittori, con la colaboración de la Dra. Alcira Nesse y la Lic. Silvana Gionco.

**ARTÍCULO 2°:** Aprobar el programa del curso de posgrado **Técnicas Electroforéticas. Fundamentos y Aplicaciones (DOC8800169)** que como anexo forma parte de la presente Resolución, para su dictado desde 28 de julio al 08 de agosto de 2025.

**ARTÍCULO 3°:** Aprobar un puntaje máximo de tres (3) puntos para la Carrera de Doctorado.

**ARTÍCULO 4°:** Establecer un arancel de **CATEGORÍA BAJA**.

**ARTÍCULO 5°:** Disponer que, de no mediar modificaciones en el programa, la carga horaria y el arancel, el presente Curso de Posgrado tendrá una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la presente Resolución.

**ARTÍCULO 6°:** Comuníquese a todos los Departamentos Docentes, a la Dirección de Estudiantes y Graduados, a la Dirección de Movimiento de Fondos, a la Dirección de Presupuesto y Contabilidad, a la Biblioteca de la FCEyN y a la Secretaría de Posgrado con copia del programa incluida. Cumplido, pase a QBIOLOGICA#FCEN y resérvese.

**ANEXO**

## PROGRAMA

Este curso, en la modalidad de postgrado y doctorado, surgió debido a la gran versatilidad de las técnicas electroforéticas, a su enorme utilidad en el estudio de muestras biológicas y al desarrollo técnico constante, conocimientos que, en general, no están incorporados en profundidad en los planes de estudios de Carreras relacionadas con la Química Biológica.

La necesidad de un curso sobre técnicas electroforéticas eminentemente práctico apoyado en imprescindibles conceptos teóricos queda demostrada, a lo largo de los años desde la creación de este curso, por la numerosa participación de profesionales provenientes de distintos ámbitos del conocimiento, tales como química, biología, veterinaria, bioquímica, medicina, agronomía, biotecnología e ingeniería, egresados y doctorandos de universidades nacionales y privadas de distintas provincias del país.

### 1. TEORÍA

#### **Electroforesis**

Fundamento. Procesos fisicoquímicos: Factores involucrados: eléctricos, físicos y químicos. Tablas de movilidad electroforética de iones inorgánicos y de proteínas. Electroforesis a bajo y alto voltaje. Sistemas de refrigeración. Desarrollos electroforéticos a voltaje, intensidad o potencia constante. Control de condiciones eléctricas. Soluciones reguladoras (pH, fuerza iónica). Efecto de la atmósfera iónica (Debye). Electroforesis libre y en medio soporte. Efectos de adsorción, tamiz molecular y electroendósmosis. Fuerza electroendosmótica: formación de la doble capa eléctrica (capas de Stern y de Helmholtz), dependencia del pH, del campo eléctrico y de las características del medio. Métodos de detección y cuantificación después de electroforesis. Tinciones generales y diferenciales. Densitometría: cuantificación por densidad de color (espectrometría, uso de *software*): limitaciones de su aplicación.

#### **Electroforesis en gel de agarosa**

Condiciones. Equipos. Características de los distintos tipos de agarosa comercial. Características selectivas de la agarosa. Factores que afectan la

movilidad de ácidos nucleicos. La electroforesis en la técnica de PCR. Aplicaciones para el control de integridad de ADN. Análisis de perfiles electroforéticos de fragmentos de DNA obtenidos por PCR. Electroforesis en la detección de procesos de apoptosis: técnicas de *ladder* y cometa. Electroforesis de campo pulsante: equipos, características técnicas, aplicaciones.

### **Electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE)**

Características de la polimerización, condiciones óptimas para la preparación del gel. Catalizadores. Tamaño de poro. Geles con gradiente de poro. Teorías acerca del movimiento de las moléculas a través de los poros del gel. PAGE en condiciones nativas y desnaturalizantes. Sistemas homogéneos y discontinuos. Sistema multifásico de buffers. Electroforesis de límite móvil, principio de isotacoforesis en el gel concentrador. Función reguladora de Kohlrausch: participación en la concentración de proteínas en el gel. Determinación de tamaños moleculares: diagrama de Ferguson y electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE). Teoría de la acción del SDS sobre las proteínas. Limitaciones de su aplicación. Detección de interacción de proteína-ADN (*Electrophoretic Mobility Shift Assay* EMSA). Técnicas de detección después de la electroforesis.

**Electrotransferencia** a membranas. Controles. Distintas técnicas de transferencia y de revelado.

**Densitometría:** principios del uso del software *ImageJ* y *GelAnalyzer*. Limitaciones en la aplicación.

**Western blotting:** característica de la técnica, métodos de detección colorimétrico, quimioluminiscencia y por fluorescencia. Aplicación de softwares al análisis semicuantitativo de densidad de bandas.

### **Isoelectroenfoque (IEF)**

Fundamento teórico. Factores fisicoquímicos. Desarrollo: medio libre y medios soporte (geles de poliacrilamida y de agarosa). Formación y determinación del

gradiente de pH. Preparación de gradientes naturales e inmovilizados. Criterios para la selección de anfolitos y de inmovilinas. Equipos. Condiciones eléctricas. Cálculo y utilidad del parámetro Voltxhora. Determinación de punto isoelectrico. Curvas de titulación de proteínas.

### **Electroforesis bidimensional**

Uso de técnicas electroforéticas en dos dimensiones para ampliar el poder resolutivo. Combinación de técnicas de electroforesis convencional y de IEF en distintos soportes.

Combinaciones de IEF y PAGE (2D). Interpretación de resultados. Equipos. Programas informáticos. Aplicación en Proteómica.

### **Electroforesis capilar**

Fundamento de la técnica, principios fisicoquímicos. Fuerza electroosmótica, dispersión, movilidad, tiempo de migración. Equipos. Tipos de capilares. Detectores (UV, arreglo de diodos, fluorescencia). Modos de operación: electroforesis capilar de zona (CZE), cromatografía miscelar electrocinética (MEKC), isoelectroenfoque (CIEF), isotacoforesis (CIP), electrocromatografía. Separación de compuestos quirales. Separación por tamaños moleculares. Interacción de proteínas-ADN por ensayos de modificación de la movilidad (eEMSA, *capillary electrophoretic mobility shift-assay*). Determinación de constantes de equilibrio. **Aplicaciones de la técnica de electroforesis capilar** a análisis e investigaciones clínicas, bioquímicas, industriales y en control de calidad.

## **2. TRABAJOS PRACTICOS**

**Objetivo:** En general, los participantes del curso ya han tenido alguna experiencia en la utilización de la técnica de electroforesis, en particular, PAGE y/o electroforesis en agarosa. En los trabajos prácticos de este curso podrán utilizar las técnicas para verificar los conceptos teóricos que se imparten. Para ello, no se trata de obtener el mejor resultado posible sino de realizar modificaciones en los tiempos y condiciones de cada técnica para que puedan observarse los resultados descritos en la teoría. Una específica selección de las

muestras a analizar permitirá discutir acerca de la técnica y las condiciones de trabajo a aplicar más adecuadas según las características del análisis. Se espera que los participantes logren responder los siguientes interrogantes a partir del desarrollo de los trabajos prácticos.

- Electroforesis a bajo voltaje. ¿Cómo afecta a un desarrollo electroforético la variación en los parámetros eléctricos y químicos? ¿En toda electroforesis es imprescindible el uso de soluciones reguladoras? ¿Cómo se determinan las condiciones eléctricas cuando se trabaja con sistemas en serie? Aprendizaje del uso de tester.
- Electroforesis en gel de agarosa. Determinación de integridad de ARN. Análisis de fragmentos de ADN obtenidos por PCR. ¿Cómo afecta al desarrollo electroforético la variación en el tamaño de poro y de la fuerza electroosmótica de la agarosa, el uso de distintas cubas y peines de diferente tamaño, el cambio de *buffers*, de condiciones eléctricas y de tiempos del desarrollo electroforético? Aplicación en estudios genéticos.
- Electroforesis en gel de poliacrilamida. ¿Cómo afecta al desarrollo electroforético la variación en los parámetros eléctricos? Condiciones nativas y desnaturizantes. SDS-PAGE. Tamaños moleculares. Sistemas discontinuos. Análisis de proteínas neutras y ácidas y de proteínas básicas aplicando el sistema multifásico de *buffers*, bajo distintas condiciones experimentales (tiempo, tamaño de poro, tamaño de gel concentrador, condiciones eléctricas, volúmenes de siembra y dispositivos de trabajo). ¿Cómo demostrar el efecto que ocurre en el gel concentrador del sistema multifásico de *buffers*? ¿Con qué criterio se puede reemplazar la glicina por otro aminoácido en el protocolo de Laemmli? ¿Cómo se modifica el protocolo para realizar el análisis de proteínas básicas? Sistemas de PAGE con urea: análisis de agregados proteicos. Aplicación a un modelo de EMSA. Tinciones especiales: tinciones de plata, de Coomassie, tinción diferencial de plata y Coomassie, tinciones para glicoproteínas y para lipoproteínas: comparar eficiencia, sensibilidad y tiempos de tinción y desteñido.
- Semicuantificación y análisis de resultados obtenidos en geles utilizando el *software ImageJ* y *GelAnalyzer*. Resolución de muestras problema. Ejemplos de muestras que revelen las limitaciones de la técnica.
- *Western blotting*. Transferencias húmeda y semiseca. Comparar ventajas y desventajas de ambas técnicas. Detección colorimétrica, por quimioluminiscencia (ECL) y por fluorescencia. Evaluación de la sensibilidad de los métodos de detección usados. Evaluación de distintos tiempos de transferencia para determinar el tiempo efectivo. ¿Cómo se controla la eficiencia del procedimiento?
- Electroforesis capilar. Electroforesis Capilar de Zona (CZE): ¿qué influencia tiene

la modificación de parámetros —campo eléctrico, temperatura y pH del buffer— sobre la velocidad del flujo electroendosmótico? Detección. Identificación y cuantificación de analitos. Formas de representación e interpretación de electroferogramas.

Isoelectroenfoque Capilar (CIEF). Determinación de puntos isoelectrónicos de proteínas. ¿Cómo se estandarizan los resultados? ¿Cuál es la característica del capilar empleado? Condiciones de mantenimiento y resguardo de los capilares.

### 3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS DE TRABAJOS PRÁCTICOS

Presentación de resultados por comisiones. Discusión, aplicando conceptos teóricos y prácticos. Identificación de problemas basados en situaciones frecuentes que surgen durante el desarrollo de las técnicas electroforéticas y estrategias para resolverlos.

### 4. RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS (por comisiones)

Problemas con inclusión de análisis de resultados. Cálculo de parámetros involucrados en las distintas técnicas electroforéticas (tamaños moleculares, puntos isoelectrónicos, constantes fisicoquímicas).

### EVALUACIÓN

- Participación en clases teóricas y prácticas
- Informe con el análisis de los resultados de los trabajos prácticos
- Examen final

### BIBLIOGRAFIA

La bibliografía que se encuentra en el laboratorio es recomendada para consulta y ampliación de conocimientos por parte de los alumnos. Se les proporciona de acuerdo al interés en temas específicos.

Libros:

- Andrews AT. *Electrophoresis. Theory, techniques and Biochemical and Clinical Applications*. Oxford: Clarendon Press, 1992, Gran Bretaña.
- Atkins PW, De Paula J, Keeler, J. *Atkins' Physical Chemistry*. Oxford University Press, 2018, Gran Bretaña.
- García-Segura JM et al. *Técnicas Instrumentales de Análisis en Bioquímica*. Editorial Síntesis, 2008, Madrid, España.
- Hames BD (ed.). *Gel electrophoresis of proteins. A practical Approach*. Oxford University Press Inc, 1998, Nueva York, USA.
- Weinberger R. *Practical Capillary Electrophoresis*. Academic Press Inc, 2012, Boston, USA.
- Skoog DA Holler J, Crouch S. *Principios de Análisis Instrumental*. McGraw-Hill, 2018, Madrid, España.
- Westermeier R. *Electrophoresis in Practice*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2005, Freiburg, Alemania.
- Wilson K & Walker J (ed.). *Principles and Techniques of Practical Biochemistry*. Cambridge University Press, Cambridge, 2000, Gran Bretaña.

Artículos sobre distintos tópicos de “Electroforesis”. Algunos ejemplos:

- Gombert Y, et al. *The hierarchical bulk molecular structure of poly(acrylamide) hydrogels: beyond the fishing net*. *Soft matter* 16:9789–9798, 2020.
- Huda N, et al. *Complete observation of all structural, conformational and fibrillation transitions of monomeric globular proteins at submicellar sodium dodecyl sulfate concentrations*. *Biopolymers* 110: e23255, 2019.
- Bao J, et al. *Prediction of Protein-DNA complex mobility in gel-free capillary*

*electrophoresis*. Anal Chem 87:2474-9, 2015.

- Álvarez RDA, et al. *Effects of a polar amino acid substitution on helix formation and aggregate size along the detergent-induced peptide folding pathway*. Biochim Biophys Acta 1828:373-381, 2013.
- Park SH, et al. *Capillary electrophoretic mobility shift assay for binding of DNA with NFAT3, a transcription factor from H9c2 cardiac myoblast cells*. Electrophoresis 32:2174-80, 2011.
- Bech-Serra, et al. *A Multi-Laboratory Study Assessing Reproducibility of a 2D-DIGE Differential Proteomic Experiment*. J Biomol Tech, 20:293–6, 2009.
- Rath A, et al. *Detergent binding explains anomalous SDS-PAGE migration of membrane proteins*. Proc Natl Acad Sci 106:1760-65, 2009.
- Lucy C, et al. *Non-covalent capillary coatings for protein separations in capillary electrophoresis*. J Chromatog A, 1184:81–105, 2008.
- Renthall R. *An unfolding story of Helical Transmembrane Proteins*. Biochemistry 45: 14559–66, 2006.
- Schneider, GF. *Pathway of unfolding of Ubiquitin in Sodium Dodecyl Sulfate studied by Capillary Electrophoresis*. J Am Chem Soc, 130:17384-93, 2008.

Digitally signed by MARTI Marcelo Adrian  
Date: 2024.10.18 15:12:50 ART  
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Marcelo Marti  
Secretario  
Secretaría de Posgrado  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Digitally signed by DURAN Guillermo Alfredo  
Date: 2024.10.18 16:30:39 ART  
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Guillermo Alfredo Duran  
Decano  
Decanato  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales