



## 14. PROGRAMA ANALITICO

### Uso de Phage Display para la selección de ligandos.

Aplicaciones en ingeniería de proteínas y diseño de fármacos

#### **Phage Display**

##### Biología de los Fagos Filamentosos

- Diferentes sistemas. Uso de M13 vs Fago Lambda.
- Vectores utilizados en phage display (Vectores tipo 3, tipo 8 y fagémidos). Valencia del display. Fusiones a pIII (bajo número de copias) o pVIII (alto número de copias). Afinidad vs avidéz. Restricciones en el tamaño del producto presentado.
- Introducción de métodos de display alternativos: Plasmid Display, Polysome Display y RNA-peptide functions.

##### Selección de péptidos como ligandos e inhibidores

- Construcción de libraries peptídicas. Disponibilidad de libraries comerciales.
- Limitaciones técnicas en la complejidad de las librerías
- Péptidos lineales versus cíclicos. Selección de péptidos agonistas a EPO y a la Hormona de Crecimiento. Uso en la Minimización de Hormonas.

##### Selección de fagos que expresan random peptides

- Purificación por afinidad con targets unidos a placas de Elisa.
- Purificación por afinidad con targets unidos a esferas paramagnéticas
- Aislamiento y análisis de los clones.
- Factores que afectan la eficiencia de la selección.

##### Identificación de epitopes o dominios de binding en proteínas de interés

- Fragmentación de genes bajo estudio. Clonado, expresión y selección. Limitaciones a dominios lineales.

##### Uso de sistemas de display para la evolución dirigida de proteínas in vitro

- Técnicas de mutagénesis utilizadas en la evolución dirigida de proteínas. DNA shuffling, error prone PCR, mutagénesis química. Combinatorial Cassette mutagenesis. Importancia de una selección estricta. Problemas relacionados con el plegado y la estabilidad de las proteínas mutantes. Limitaciones biológicas en la expresión de mutantes.

##### Uso de Phage Display para la selección y el requerimiento de cDNA clones.

- Potencial y limitaciones del sistema phage



## 15.- BIBLIOGRAFIA

Phage Display of Peptides and Proteins: A laboratory Manual. Ed by B. Kay, J. Winter and J. McCafferty Academic Press Inc.

Libraires of Peptides and Proteins Displayed on Filamentous Phage. G. Smith and J. Scott. Methods in Enzymology (1993) Vol. 217,228-257.

Filamentous Phage Display of Oligopeptide Libraires. J. Burrit et al. (1996) Analytical Biochemistry 238, 1-13.

Bacteriophage Display and Discovery of Peptide Leads For Drug Development. H. Lowman (1997) Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 26, 401-24.

Phage Display of Peptide Libraires on Protein Scaffolds. H. Lowman (1997) Methods in Mol. Biol. 87,249-264.

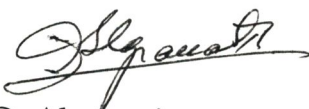
RNA-peptide Fusion for the in vitro Selection of Peptides and Proteins. R. Roberts and J. Szostak. (1997) Proc. Natl. Acad. Sci 94, 12297-12302.

Wrighton et al. (1996) Science 273, 458-463.

FECHA 18/10/99

FIRMA COORDINADOR:

Aclaración firma: Dr. Israel D. Algranati



FIRMA DIRECTOR:

Sello Aclaratorio:



Dr. LUIS A. GUESADA ALLUE  
DIRECTOR TITULAR  
Instituto de Investigaciones  
Bioquímicas - FCEyN - UBA