

ASIGNATURA: Electroforesis. Aplicaciones biológicas

CARRERA: Doctorado

CARACTER: Post-grado

DURACION: 30/3 al 14/4

RESPONSABLES: Dr. Juan M. Castagnino - Dra. Alcira B. Nesse

HORAS DE CLASE: 35hs.; Teóricas: 10hs. - Prácticas: 25hs.

PROGRAMA:

- Electroforesis. Teoría general. Electroforesis libre y en medio soporte. Características fisicoquímicas del medio. Elect. a bajo y alto voltaje. Principio de los distintos tipos de electroforesis. Sistemas de anfolitos. Sistemas de iones rápidos y lentos. Sistemas de flujo libre. Electroforesis a bajo y alto voltaje.
- Medios soportes. Electroforesis en papel, acetato de celulosa, agar, gel de almidón, gel de poliacrilamida.
- Geles de poliacrilamida. Características de la polimerización de la acrilamida, condiciones óptimas de preparación del gel. Trama molecular. Catalizadores.
- Separación en geles de poliacrilamida. Electroforesis en disco, en placas horizontales y verticales. Electroforesis preparativa. Gradientes de poliacrilamida. Bidimensional. SDS-poliacrilamida.
- Soluciones buffers. Consideraciones teóricas. Equipos para desarrollar los distintos tipos de electroforesis. Componentes. Métodos de detección. Coloración y decoloración. Métodos de cuantificación. Densimetría. Elución. Métodos radioisotópicos.
- Inmunolectroforesis. Principios. Distintos tipos. Inmunolectroforesis bidimensional. Métodos de cuantificación. de muestras biológicas.
- Enfoque isoelectrico. Teoría general. Principios fisicoquímicos. Medios soportes: Gel de poliacrilamida, agarosa. Anfolitos: transportadores. Equipos. Fuentes de poder. Sistemas de refrigeración. Técnicas analíticas y preparativas.
- Isotacoforesis. Principios fisicoquímicos. Separación de aniones y cationes. Sistemas de electrolitos iniciales y terminales. Equipos. Técnicas de detección.
- Se discutirá la aplicación de las diferentes técnicas analíticas incluidas en el temario a su uso en los laboratorios clínicos, bromatológicos y farmacológico, para el análisis de material biológico, vegetal, animal y humano.

PROGRAMA DE TRABAJOS PRACTICOS

Electroforesis a bajo voltaje empleando distintos medios soportes (acetato de celulosa, agar, gel de almidón) y diferentes coloraciones (negro amido, sudán, PAS)
 Separación de proteínas vegetales y animales.
 Fraccionamiento de hemoglobinas.
 Electroforesis a alto voltaje en papel empleando diferentes tinciones (ninhidrina,

Aprobado por Resolución CD 627/88

Dr. Celia F. Coto

Direc.

Departamento de Química Biológica

rectivos de Ehrlich, de Pauly, etc.)

Electroforesis en gel de poliacrilamida en disco y en placa.

Separación de isoenzimas.

Tinciones específicas.

Método de concentración de muestras biológicas: orina, líquido cefalorraquídeo.

Inmunolectroforesis.

Fraccionamiento inmunolectroforético de suero humano.

Inmunolectroforesis cruzada (bidimensional).

Detección de alteraciones en la molécula proteica.

Técnica de Laurell. Cuantificación proteica.

Enfoque isoelectrico.

Empleo de anfolitos con diferentes rangos de pH y sobre diversos medios soportes (agarosa, gel de poliacrilamida).

Fraccionamiento de péptidos y proteínas vegetales y animales. Isotacoforesis. Separación de aniones y cationes.

Métodos de cuantificación. Densitometría. Elución.

Desarrollo de distintas técnicas para completar el trabajo especial.

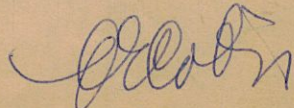
Exposición del trabajo especial.

Nota:

Durante el Curso, cada alumno desarrollará un trabajo especial.

BIBLIOGRAFIA

- 1- Laboratory Techniques in Biochemistry and molecular Biology Vol 1 y 5, T.S. Work (ed) y E. Work (ed), Holando, 1975.
- 2- Electroforesis, Neremberg, St, editorial Jims, España, 1968.
- 3- Electroforesis, Castagnino, J.M., editorial Universitaria de Buenos Aires, Argentina, 1968.
- 4- Inmunolectroforesis. Métodos y atlas. Schneider, Berndt, Editorial Panamericana 1977.
- 5- Inmunoglobulinas humanas, editorial Gador.
- 6- Paper Chromatography and paper electrophoresis. Block, Durum and Zweig. editorial Academic Press Inc Publisher. USA, 1958.
- 7- Fisiopatología proteica en las nefropatías. Scarpioni, Heer. Editorial Panamericana, 1977.
- 8- Todd-Sanford-Davidsohn. Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio. J.B. Henry (Director). Salvat. España, 1984.
- 9- Simposio sobre proteínas plasmáticas. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, Vol 15, Marzo 1981 (1).
- 10- Proteinograma electroforético, imágenes e interpretación. Zukas, P.A. Editorial

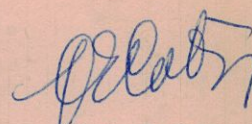

Dra. Celia E. Coto

Directora

Departamento de Química Biológica

Colmegno, Argentina, 1983.

- 11- Kohn, J.A. cellulose acetate supporting medium for zone electrophoresis. Clin. Chin. Acta 2.297, 1957.
- 12- Hjerten, S. Biochem. Biophys. Acta. 53:514, 1961.
- 13- Ornstein, Leonard. Disc. Electrophoresis 1, Background and theory. Ans. N.Y. Acad. Sci, 121:321, 1964.
- 14- Allen, Robert. Application of polyacrylamide gel electrophoresis and polyacrylamide gel isoelectric focusing in clinical chemistry Review. Journal of Chromatography, 146, 1978, 1-32.



Dra. Celia E. Coto
Directora Interina
Departamento de Química Biológica

imp
Dr. Castagnino
23-12-86