

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

- 1.- DEPARTAMENTO: **QUIMICA BIOLÓGICA**
- 2.- CARRERA DE: a) Licenciatura en Orientación
b) Doctorado y/o Post-Grado en **Ciencias Químicas, Ciencias Biológicas y afines**
c) Profesorado en
d) Cursos técnicos en Meteorología
e) Cursos de Idiomas
- 3.- **2do. CUATRIMESTRE de 1998**
- 4.- N° DE CODIGO DE CARRERA: **Doctorado en QUIMICA 51**
Doctorado en BIOLOGIA 55
- 5.- MATERIA: **TECNICAS ELECTROFORETICAS. FUNDAMENTOS Y APLICACIONES**
N° DE CODIGO: **6148**
- 6.- PUNTAJE PROPUESTO: **3 puntos**
- 7.- PLAN DE ESTUDIO AÑO:
- 8.- CARACTER DE LA MATERIA: **CURSO DE POSTGRADO**
- 9.- DURACION: **5 semanas**
- 10.- HORAS DE CLASE SEMANALES:
a) Teóricas.....**4 h.** d) Seminarios h.
b) Problemas.....**1 h.** e) Teórico-problemas..... h.
c) Laboratorio... **5 h.** f) Teórico-prácticas..... h.
g) Total ...**10 h**
- 11.- CARGA HORARIA TOTAL: **55 h.**
- 12.- ASIGNATURAS CORRELATIVAS: **Graduados en Ciencias Químicas, Ciencias Biológicas, Bioquímica, Ciencias Médicas y Ciencias Veterinarias**
- 13.- FORMA DE EVALUACION: **Examen final. Certificado de aprobación.**
- 14.- PROGRAMA ANALITICO:

CLASE 1

TEORICA: Electroforesis: generalidades. Electroforesis libre y en medio soporte. Características fisicoquímicas de la electroforesis. Electroforesis a alto y bajo voltaje: distintos medios soportes (papel, acetato de celulosa, geles: agar, agarosa, poliacrilamida). Métodos de detección y cuantificación después de electroforesis. Fundamento de las distintas técnicas electroforéticas.

PRACTICA: Condiciones eléctricas para la electroforesis. Medición de voltaje e intensidad.

CLASE 2

TEORICA: Geles de poliacrilamida. Características de polimerización de la acrilamida, condiciones óptimas de preparación del gel. Catalizadores. Tamaño de poro. Teorías acerca del movimiento de las moléculas durante la electroforesis en gel de poliacrilamida. Electroforesis en disco y en placa, en condiciones nativa y desnaturizantes. Electroforesis preparativa. Gradientes de poliacrilamida. Sistemas homogéneos y de buffers discontinuos. Determinación de pesos moleculares mediante electroforesis en geles de poliacrilamida: diagrama de

Dr. ERNESTO J. MASSOUH
DIRECTOR ADJUNTO
DEP. QUIMICA BIOLÓGICA
FCEN-UBA

Ferguson y electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de SDS (SDS-PAGE).

PRACTICA: Preparación de portaobjetos con agar base. Preparación del sistema de PAGE en placa (armado y sellado).

CLASE 3

PRACTICA: Electroforesis en distintos medios soportes: acetato de celulosa gelificado, agar, agarosa, acetato de celulosa gelificado y deshidratado. Separación electroforética de proteínas y lipoproteínas séricas. Tinciones. Densitometría. Preparación de placas de geles de poliacrilamida.

CLASE 4

PRACTICA: Electroforesis en geles de poliacrilamida. Sistemas de buffers homogéneo y discontinuo. Condiciones nativas y desnaturalizantes. Tratamiento de la muestra. Siembra. Tinciones. Secado de gel. Aplicación a la separación de proteínas séricas y urinarias.

PROBLEMAS: tema de la clase teórica 1. Discusión de resultados del trabajo práctico 1.

CLASE 5

TEORICA: Electroforesis y detección inmunológica. Fundamento, distintos tipos. Inmunofijación, inmunolectroforesis, electroinmuno-difusión cruzada, "rocket". Western blot, contrainmunolectroforesis.

PRACTICA: Preparación de portaobjetos con agar base. Preparación de placas de poliacrilamida. Lavado de placas de electroforesis del día anterior.

CLASE 6

PRACTICA: Combinación de técnicas electroforéticas e inmunológicas para la detección y cuantificación de proteínas: inmunolectroforesis, inmunofijación, inmunolectroforesis bidimensional, sobre soportes de agar, agarosa y membranas de acetato de celulosa. SDS-PAGE y transferencia. Técnica de rocket. Aplicación a la resolución de muestras incógnitas.

CLASE 7

TEORICA: Isoelectroenfoque. Teoría general. Principios fisicoquímicos. Medios soportes: geles de acrilamida, geles de agarosa. Anfolitos. Formación y determinación del gradiente de pH. Equipos. Fuentes de poder. Curvas de titulación de proteínas.

PROBLEMAS: Tema: poliacrilamida e inmunolectroforesis. Discusión de los trabajos prácticos 2 y 3.

CLASE 8

TEORICA: Técnicas bidimensionales. Combinaciones de PAGE e IEF.

Electroforesis capilar: Fundamento, principios. Fuerza electroosmótica, dispersión, movilidad, tiempo de migración. Distintos modos de operación: de zona, cromatografía miscelar electrocinética, isoelectroenfoque, isotacoforesis. Detectores. Aplicaciones.


Isotacoforesis: Principios fisicoquímicos. Separación de aniones y cationes. Sistemas de electrolitos iniciales y terminales. Técnicas de detección

PRACTICA: Mostración de técnicas bidimensionales.

CLASE 9

PRACTICA: Isoelectroenfoque en geles de poliacrilamida. Elección de los parámetros eléctricos. Desarrollo. Tinción. Cálculo de los voltajes aplicados. Medición del gradiente de pH. Aplicación al estudio de hemoglobinas.

Comparación con la separación de hemoglobinas por electroforesis en membranas


DR. ERNESTO J. MASSOUH
DIRECTOR ADJUNTO
DEP. QUIMICA BIOLÓGICA
FCEN-UBA

Comparación con la separación de hemoglobinas por electroforesis en membranas de acetato de celulosa gelificado y deshidratado (Titán).

CLASE 10

TEORICA: Discusión de cuestionarios. Conclusiones.

PROBLEMAS: IEF.

PRACTICA: Repetición de trabajos prácticos. Discusión de resultados.

15.- BIBLIOGRAFIA:

Andrews AT. Electrophoresis. Theory, Techniques and Biochemical and Clinical Applications. Oxford University Press, New York, 1992.

Hames BD, Rickwood D (ed.). Gel Electrophoresis of Proteins. A practical approach. Oxford University Press, New York, 1990.

Grossman FD, Colburn JC. Capillary Electrophoresis. Theory and practice. Academic Press Inc, San Diego, 1992.

Artículos de las siguientes publicaciones periódicas:

Clinical Chemistry (American Association for Clinical Chemistry)

Analytical Biochemistry (Academic Press Inc.)

Annals of the New York Academy of Sciences

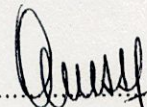
Clinical Biochemistry (Elsevier Science Ltd.)

Electrophoresis (Verlag Chemie Weinheim)

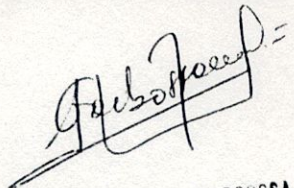
Journal of Chromatography (Elsevier Scientific Publishing Co.)

Analytical Chemistry


Fecha

Firma Profesor 

Aclaración *Neira Nesse*



Doc. GRACIELLA GARBOSSA

Firma Director 

Sello
DR. ERNESTO J. MASSOUH
DIRECTOR ADJUNTO
DEP. QUÍMICA BIOLÓGICA
FCEN-UBA