



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Química Biológica

Q. B. 2008
21

Z

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA

CURSO DE GRADO

AÑO: 2008

- 1) NOMBRE DEL CURSO/SEMINARIO: Instrumentación Biológica
- 2) NOMBRE Y APELLIDO DEL RESPONSABLE: María del Carmen Ríos de Molina
- 3) DOCENTES QUE COLABORAN EN EL DICTADO DEL CURSO: Eduardo Cortón, Irene Quintana, Laura Matkovic, Roberto Pozner, Marcelo Steinberg.
Profesora invitada: Alcira Nesse.
- 4) FECHA DE INICIACIÓN: 17/03/08 FECHA DE FINALIZACIÓN: 30/06/08
- 5) CANTIDAD DE HORAS TOTALES DE DICTADO:
 - a) TEORICAS: 52,5
 - b) SEMINARIOS: 14
 - c) LABORATORIO: 52,5
 - d) CLASES TEORICAS-PRACTICAS: 7

} 126 hs...
- 6) FORMA DE EVALUACIÓN: Seminarios e informes de trabajos prácticos, exámenes parciales y final
- 7) LUGAR DE DICTADO: Departamento de Química Biológica
- 8) PUNTAJE QUE OTORGA PARA EL DOCTORADO: 5
- 9) Nº DE ALUMNOS: Mínimo: 6 Máximo: 20
- 10) ARANCEL PROPUESTO: -
- 11) PROGRAMA ANALÍTICO Y BIBLIOGRAFÍA DEL CURSO: se adjuntan

VºBº Del Departamento
Dra. INÉS BARRAL CAMINO
DIRECTORA ADJUNTA
Dpto. QUÍMICA BIOLÓGICA
F.C.E. y N. - UBA

Firma del Responsable



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Química Biológica

3

PROGRAMA ANALITICO

1. Espectrofotometría

Energía radiante, su interacción con la materia y delimitación de la zona de trabajo. Espectrofotómetros: sus componentes, modelos, funcionamiento y usos. Fuentes: UV, visible, IR. Monocromadores: tipos, ventajas, limitaciones. Celdas: clases y ámbito de trabajo. Detectores de vacío y de estado sólido. Equipos de simple o de doble haz. Parámetros óptimos en espectrofotometría: ancho de banda, ancho de ranura, resolución. Luz espuria. Verificación de los equipos: reproducibilidad, exactitud fotométrica, exactitud de la longitud de onda, resolución, cifra de luz espuria, etc. Sistemas y normas de control de parámetros instrumentales.

Técnicas espectrofotométricas. Espectrofotometría de derivadas. Métodos de obtención de espectros de derivadas: ópticos, por derivación electrónica analógica, por procesamiento digital de la información. Sistemas a detectores integrados extensos de fotodiodos (*linear array*). Principios operativos de la espectrofotometría a doble longitud de onda.

2. Fluorimetría

Fluorescencia y fosforescencia. Mecanismos de excitación y de emisión. Extinción (*quenching*) inter- e intra-molecular. Transferencia de energía. Rendimiento cuántico. Fuentes de excitación, características y uso. Cubetas. Filtros ópticos y monocromadores. Técnicas para estudios cualitativos estructurales. Tiempo de vida media. Calibración de los instrumentos. Condiciones óptimas operacionales. Normas de control y verificación de equipos.

3. Potenciometría

Fundamentos de los métodos de medición de pH, CO₂ y análogos. Electrodo de referencia e indicadores. Acción de los controles sobre las isotermas del instrumento. Punto isopotencial. Verificación del sistema de medición. Error de medición. Error de suspensión. Influencia de la temperatura. Histéresis. Precauciones a tener en cuenta en las mediciones en sistemas biológicos. Potencial de asimetría. Resistencia, envejecimiento, blindaje. Detalles prácticos para el uso de electrodos combinados, monobastón y otros: efecto de la agitación, renovación, etc. Biosensores: instrumentos y aplicaciones.

4. Electroforesis

Factores que influyen en la electroforesis. Movilidad electroforética. Equipamiento: fuentes de poder, unidades electroforéticas. Medios soportes. Electroforesis en geles de poliacrilamida (PAGE). Catalizadores. Tamaño de poro. Condiciones nativas y desnaturizantes. Utilización de detergentes y de agentes reductores: dodecilsulfato de sodio, urea, etc. Procedimientos analíticos y preparativos. Sistemas homogéneos. Sistemas de *buffers* discontinuos: límite móvil, isotacoforesis, ley de Kohlrausch. Determinación de peso molecular: diagrama de Ferguson, SDS-PAGE, gradiente de poro. Transferencia a membranas de nitrocelulosa o de nylon. Inmunolectroforesis, contraimunolectroforesis, inmunodifusión monodimensional (*rocket*) y bidimensional. Técnicas electroforéticas en geles de agarosa. Revelado con



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Química Biológica

bromuro de etidio. Aplicaciones: detección de productos de PCR, detección de daño al ADN (técnica del *lader*) relacionado a apoptosis.

Isoelectroenfoque. Principios teóricos. Geles acrilamida y de agarosa. Anfolitos. Formación y determinación de gradientes de pH. Determinación del punto isoeléctrico de una proteína. Ecuación diferencial del poder resolutivo. Curvas de titulación. Equipos, fuente de poder de alto voltaje y sistema de refrigeración. Electroforesis bidimensional: isoelectroenfoque y SDS.-PAGE. Perfiles proteicos. Bases de datos. Análisis computacional.

Electroforesis capilar: Principios teóricos. Equipamiento. Capilares. Métodos de detección. Factores que afectan la resolución: campo eléctrico, electroendosmosis, dispersión. Modos de operación: zonal (CZE), miscelar electrocinética (MEKC), isoelectroenfoque (CIEF), isotacoforesis (CITP). Equipos. Factores que modifican el fraccionamiento. Aplicaciones.

5. Centrifugación

Fundamentos teóricos de centrifugación. Tipos de centrifugas: clasificación por velocidad, por uso o por técnica. Características de los elementos que la componen. Ultracentrífuga analítica preparativa, centrífuga de flujo continuo, centrifugas refrigeradas de alta velocidad. Rotores: flotantes, angulares, verticales, zonales, de flujo continuo. Cuidado de los rotores. Selección, eficiencia y aplicación de rotores. Modos de centrifugación: diferencial, zonal, zonal en gradiente de densidad. Tipos de gradientes: preformados, autogenerador. Centrifugación isopícnica. Condiciones de centrifugación. Aplicaciones: fraccionamiento subcelular, detección de cambios conformacionales, determinación del coeficiente de sedimentación o de la masa molecular de proteínas, recolección de células, elutriación, estimación de la pureza de macromoléculas. Normas elementales de seguridad

6. Cromatografía

Cromatografía en fase gaseosa. Principios. Equipo. Detectores. Eficiencia y velocidad óptima. Columnas cromatográficas: teoría y técnicas de empleo. Capacidad. Resolución. Cromatografías analíticas y preparativas. Parámetros de trabajo. Cromatogramas y análisis de resultados. HPLC y FPLC: características y propiedades generales. Columnas: resolución, eficiencia, selectividad, factor de capacidad. Cromatografía sólido-líquido. Mecanismos. Elección de los solventes. Precolumnas. Tipos de cromatografía: partición, intercambio iónico, exclusión molecular, afinidad. Aplicaciones: purificación e identificación de lípidos, purificación de proteínas. Análisis de lípidos por cromatografía en capa delgada (TLC).

PROGRAMA TRABAJOS PRACTICOS/SEMINARIOS

Todos los temas incluyen los trabajos prácticos correspondientes.

Los alumnos presentarán oralmente trabajos en los que se empleen nuevas metodologías, puntualizando las ventajas que presenten frente a metodologías previas y dando el fundamento de los mismos. Se analizará también los conceptos de control de calidad y el análisis estadístico de los resultados, los criterios de estandarización y la validación del método.



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Química Biológica

5

Bibliografía General

- Curtius H, Roth M (editores). *Clinical Biochemistry. Principles and Methods*, Walter de Gruyter Ed., Nueva York, USA, 1997.
- García-Segura JM et al. *Técnicas Instrumentales de Análisis en Bioquímica*, Editorial Síntesis, Madrid, España, 1999.
- Malmstadt N, Enke C, Crouch G. *Electronics and Instrumentation for Scientists*, Benjamin-Cummings, 1989.
- Skoog DA, West DM. *Análisis Instrumental*, McGraw-Hill, Madrid, España, 1993. Willard H, Merritt L, Dean J. *Métodos Instrumentales de Análisis*, Grupo Editorial Iberoamérica, 1991.
- Wilson K, Walker J (editores). *Principles and Techniques of Practical Biochemistry*, Cambridge University Press, Edimburgo, UK, 2000.
- Work TS, Work E (editores). *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*, North Holland Publishing Co., Amsterdam, Holanda, 1996.

Bibliografía específica para los diferentes módulos

- Andrews AT. *Electrophoresis. Theory, techniques and Biochemical and Clinical Applications*, Oxford University Press, Nueva York, USA, 1992.
- Bates RG. *Determination of pH, Theory and Practice*, Wiley.
- Burgess C, Knowles A. *Techniques in Vis and UV Spectrometry*, Vol. 1-3, Chapman and Hall, 1995.
- Hames BD, Rickwood D (editores). *Gel electrophoresis of proteins. A practical Approach*, Oxford University Press, Oxford, Inglaterra, 1990.
- Heiger DN. *High Performance Capillary Electrophoresis*, Editado por HewlettPackard Company, Alemania, 1993.
- Robards K, Hadad PR, Jackson PE. *Principles and Practice of Modern Chromatographic Methods*, Academic Press, Londres, UK, 1994.
- Strobel H, Heineman W. *Chemical Instrumentation: A Systematic Approach*, Wiley Interscience, Nueva York, USA, 1989.
- Snyder LR, Kirkland JJ, Glajch JL. *Practical HPLC Method Development*, Wiley Interscience, Nueva York, USA, 1997.



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Referencia Expte. N° 492.395/08

Buenos Aires,

31 MAR 2008

VISTO:

la nota (25/02/2008) presentada por la Dra. Nélica Candurra, Directora Adjunta del Departamento de Química Biológica, mediante la cual eleva la Información y el Programa Analítico del Curso de Postgrado **INSTRUMENTACION BIOLÓGICA**, que será dictado durante el **primer cuatrimestre de 2008** (desde el 17/03/2008 al 30/06/2008), con la Dra. María del Carmen Ríos de Molina como docente responsable. Los siguientes profesionales tendrán a su cargo el dictado del mismo: Eduardo Cortón, Irene Quintana, Laura Matkovic, Roberto Pozner, Marcelo Steinberg y la Dra. Alcira Nesse como Docente Invitada

CONSIDERANDO:

- Lo actuado por la Comisión de Doctorado,
- lo actuado por la Comisión de Enseñanza, Programas, Planes de Estudio y Posgrado
- lo actuado por la Comisión de Presupuesto y Administración
- lo actuado por este cuerpo en Sesión Ordinaria realizada en el día de la fecha,
- en uso de las atribuciones que le confiere el Artículo N° 113° del Estatuto Universitario,

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

Artículo 1º: Autorizar el Dictado del Curso de Posgrado **INSTRUMENTACIÓN BIOLÓGICA**, de 126 hs. de duración.

Artículo 2º: Aprobar el Programa Analítico del Curso de Postgrado **INSTRUMENTACIÓN BIOLÓGICA**.

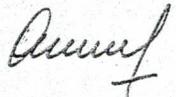
Artículo 3º: Aprobar un Puntaje de cinco (5) puntos para la Carrera del Doctorado.

Artículo 4º: Aprobar un Arancel de 20 Módulos. Disponer que los montos recaudados serán utilizados conforme a lo dispuesto por la Resolución CD N° 072/03.

Artículo 5º: Comuníquese a la Dirección del Departamento de Química Biológica, a la Biblioteca de la FCEyN y a la Subsecretaría de Postgrado (con fotocopia del Programa incluida).

Resolución CD N°
SP/med

406


DRA. NORA CEBALLOS
SECRETARÍA ACADÉMICA


DR. JORGE ALIAGA
DECANO