

# FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

# "TECNICAS ELECTROFORETICAS. FUNDAMENTOS Y APLICACIONES" CURSO DE POSTGRADO - PROGRAMA 2016

#### Electroforesis

Teoría general. Movilidad electroforética. Factores que influyen en procesos electroforéticos: eléctricos, físicos, químicos. Características físicoquímicas de la electroforesis. Electroforesis a bajo y alto voltaje. Control de condiciones eléctricas. Soluciones reguladoras (pH, fuerza iónica). Medios soporte (adsorción, fuerza electroendosmótica, tamiz molecular). Métodos de detección y cuantificación. Tinciones generales y diferenciales. Cuantificación por densidad de color. Densitometría.

Electroforesis en gel de agarosa

Condiciones. Equipos. Factores que afectan la movilidad. Análisis de ácidos nucleicos. La electroforesis en la técnica de PCR (concepto y generalidades de la técnica, detalles de los desarrollos electroforéticos). Aplicaciones para el control de integridad de ADN. Análisis de perfiles electroforéticos de fragmentos de cDNA 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 en la preparación del gel. Catalizadores. Tamaño de poro. Geles con gradiente de poro. Teorías acerca del movimiento de las moléculas a través del gel. PAGE en condiciones nativas y desnaturalizantes. Técnicas analítica y preparativa. Sistemas homogéneos y de buffers discontinuos. Determinación de tamaños moleculares: diagrama de Ferguson y electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de SDS (SDS-PAGE). Técnicas de detección. Electrotransferencia a membranas de nitrocelulosa. Controles. Distintas técnicas de revelado.

#### Isoelectroenfoque (IEF)

Teoría general. Principios fisicoquímicos. Medios soporte: geles de poliacrilamida y de agarosa. Anfolitos. Formación y determinación del gradiente de pH. Gradientes naturales e inmovilizados. Equipos. Fuentes de poder. Condiciones eléctricas. Cálculo de Voltxhora. Sistemas de refrigeración. Determinación de punto ioeléctrico. Curvas de titulación de proteínas.

### Electroforesis bidimensional

Combinaciones de IEF y PAGE. Interpretación de resultados. Equipos. Programas informáticos. Proteómica.

Electroforesis y detección inmunológica.

Combinación del desarrollo electroforético y reacción inmunológica. Fundamento. Descripción de las diferentes técnicas. Inmunofijación, inmunoelectroforesis, electroinmunodifusión monodimensional (rocket), electroinmunodifusión cruzada. Contrainmunoelectroforesis. Características de las técnicas: sensibilidad, especificidad. Western blotting: característica de la técnica, métodos de detección colorimétrico y por quimioluminiscencia. Aplicación de softwares al análisis semicuantitativo de densidad de bandas.

Electroforesis capilar

Fundamento, principios. Fuerza electroendosmótica, dispersión, movilidad, tiempo de migración. Modos de operación: electroforesis capilar de zona (CZE), cromatografía miscelar electrocinética (MEKC), isoelectroenfoque (CIEF), isotacoforesis (CIP), electrocromatografía. Separación de compuestos quirales. Equipos. Capilares. Detectores. Aplicaciones.

#### TRABAJOS PRACTICOS

- Electroforesis a bajo voltaje. Medición de parámetros eléctricos (uso de tester).
- Electroforesis en gel de agarosa. Determinación de integridad de ARN. Análisis de fragmentos de ADN obtenidos por PCR. Aplicación a estudios genéticos.

- Electroforesis en gel de poliacrilamida. Condiciones nativas y desnaturalizantes. SDS-PAGE Tamaños moleculares. Sistemas discontinuos. Gradiente de poro. Tinciones especiales.
- Western blotting. Transferencia húmeda y semiseca. Detección por colorimetría y por quimioluminiscencia (ECL).
- Electroforesis capilar. Influencia de distintos parámetros en Electroforesis Capilar de Zona. Separación proteica. Detección. Cuantificación. Isoelectroenfoque. Interpretación de datos.

#### **BIBLIOGRAFIA**

 Bibliografía específica en revistas científicas de publicación periódica: artículos de actualización seleccionados.

## Bibliografía general:

Artículos sobre distintos tópicos de "Electroforesis" publicados en revistas de difusión internacional.

Andrews AT. Electrophoresis. Theory, techniques and Biochemical and Clinical Applications. Oxford University Press, Nueva York, USA.

Campbell AM. Monoclonal antibody technology, Elsevier, Amsterdam, Holanda.

Curtius H & Roth M. Clinical Biochemistry. Principles and methods. Walter de Gruyter, Nueva York, USA.

García-Segura JM et al. Técnicas Instrumentales de Análisis en Bioquímica. Editorial Síntesis, Madrid, España.

Hames BD & Rickwood D (editores). Gel electrophoresis of proteins. A practical Approach. Oxford University Press, Oxford, Inglaterra:

Heiger DN. High Perfomance Capillary Electrophoresis. Editado por Hewlett-Packard Company, Alemania.

Hudson L & hay F. Practical Immunology. Blackwell Scientific Publications, Londres, Inglaterra.

Skoog DA & Leary JJ. Análisis Instrumental. McGraw-Hill, Madrid, España.

Westermeier R. Electrophoresis in Practice. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., Freiburg, Alemania.

Wilson K & Walker J (ed.). Principles and Techniques of Practical Biochemistry. Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido.

Work TS, Work E. Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology. Vol IV. American Elsevier Publ. Co., New York, USA.

Dra. Alcira Nesse

Profesora UBA- Investigadora CONICET



### Universidad de Buenos Aires Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Referencia Expte. N° 503.853/14

Buenos Aires,

2 7 JUN 2016

VISTO:

la nota presentada por el Dr. Marcelo Marti, Director del Departamento de Química Biológica, mediante la cual eleva la información del curso de posgrado **Técnicas electroforéticas: fundamentos y aplicaciones**, que será dictado del 8 al 19 de agosto de 2016 por la Dra. Alcira Nesse, con la colaboración de la Dra. Danierla Vittori, la Dra. Ana María Lauricella, la Dra. Valeria Genoud, la Lic. Silvana Gionco y la Lic. Romina Maltaneri,

# CONSIDERANDO:

lo actuado por la Comisión de Doctorado,

lo actuado por la Comisión de 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 Nº 113º del Estatuto Universitario,

### EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES R E S U E L V E:

Artículo 1º: Autorizar el dictado del curso de posgrado Técnicas electroforéticas: fundamentos y aplicaciones de 65 hs. de duración.

Artículo 2º: Aprobar el programa del curso de posgrado Técnicas electroforéticas: fundamentos y aplicaciones, obrante a fs 32 y 33 del expediente de la referencia.

Artículo 3º: Aprobar un puntaje máximo de tres (3) puntos para la Carrera del Doctorado.

Artículo 4º: Aprobar un arancel de 1200 módulos. Disponer que los fondos recaudados deban ser utilizados según lo dispuesto en la Resolución 072/03.

Artículo 5°: Comuníquese a la Dirección del Departamento de Química Biológica y a la Biblioteca de la FCEyN (con fotocopia del programa incluida).

Artículo 6°: Comuniquese a la Dirección de Alumnos, a la Dirección de Presupuesto y Contabilidad, a la Dirección de Movimiento de Fondos y a la Secretaria de Posgrado. Cumplido archivese.

Resolución CD Nº SP/ga/10/06/2016

1457

Dr. PABLO J. PAZOS Secretario Adjunto de Posgrado FCEYN - UBA

OT JUAN CARLOS REBOREDA