



FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

"TECNICAS ELECTROFORETICAS. FUNDAMENTOS Y APLICACIONES"
CURSO DE POSTGRADO - PROGRAMA 2017

Electroforesis

Teoría general. Movilidad electroforética. Factores que influyen en procesos electroforéticos: eléctricos, físicos, químicos. Características fisicoquímicas de la electroforesis. Electroforesis a bajo y alto voltaje. Control de condiciones eléctricas. Soluciones reguladoras (pH, fuerza iónica). Medios soporte (adsorción, fuerza electroosmótica, 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 desnaturizantes. 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 dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE). Técnicas de detección. Electrotransferencia a membranas de nitrocelulosa. Controles. Distintas técnicas de revelado.

Isoelectroforesis (IEF)

Teoría general. Principios fisicoquímicos. Medios soporte: geles de poliacrilamida y de agarosa. Anfólitos. Formación y determinación del gradiente de pH. Gradientes naturales e inmovilizados. Equipos. Fuentes de poder. Condiciones eléctricas. Cálculo del parámetro Voltxhora. Sistemas de refrigeración. Determinación de punto isoelectrónico. 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, inmuno-electroforesis, electroinmunodifusión monodimensional (rocket), electroinmunodifusión cruzada. Contraelectroforesis. 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 electroosmótica, dispersión, movilidad, tiempo de migración. Modos de operación: electroforesis capilar de zona (CZE), cromatografía miscelar electrocinética (MEKC), isoelectroforesis (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.

Dr. Marcelo Marti
DIRECTOR
Dpto. QUÍMICA BIOLÓGICA
FCEYN - U.B.A.

- 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 quimioluminiscencia (ECL).
- Electroforesis capilar. Influencia de distintos parámetros en Electroforesis Capilar de Zona. Separación proteica. Detección. Cuantificación. Isoelectrofoque. Interpretación de datos.



BIBLIOGRAFIA

Libros:

- Andrews AT. *Electrophoresis. Theory, techniques and Biochemical and Clinical Applications*. Oxford: Clarendon Press, 1992., Gran Bretaña.
- Atkins PW. *Physical Chemistry*. Oxford University Press, Nueva York, 2006, USA.
- García-Segura JM et al. *Técnicas Instrumentales de Análisis en Bioquímica*. Editorial Síntesis, 2008, Madrid, España.
- Hames BD (ed.). *Gel electrophoresis of proteins. A practical Approach*. Oxford University Press Inc, 1998, Nueva York, USA:
- Heiger DN. *High Performance Capillary Electrophoresis*. Editado por Hewlett-Packard Company, 1992, Alemania.
- Skoog DA, Holler J, Crouch S. *Principios de Análisis Instrumental*. McGraw-Hill, Madrid, 2009, España.
- Westermeyer 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, 2000, Gran Bretaña.

Artículos sobre distintos tópicos de "Electroforesis". Algunos ejemplos:

- Alvarez RDA et al. *Effects of a polar amino acid substitution on helix formation and aggregate size along the detergent-induced peptide folding pathway*. *Biochim Biophys Acta* 1828:373-381, 2013.
- Frankowski H et al. *Use of Gel Zymography to Examine Matrix Metalloproteinase (Gelatinase) Expression in Brain Tissue or in Primary Glial Cultures*. *Methods Mol Biol* 814: 221-33, 2012.
- Lucy C et al. *Non-covalent capillary coatings for protein separations in capillary electrophoresis*. *J Chromatog A*, 1184:81-105, 2008.
- Picariello G et al. *Proteomics, Peptidomics, and Immunogenic Potential of Wheat Beer*. *J Agric Food Chem* 63:3579-86, 2015.
- Ratha A, et al. *Detergent binding explains anomalous SDS-PAGE migration of membrane proteins*. *Proc Natl Acad Sci* 106:1760-65, 2009.
- Renthal R. *An unfolding story of Helical Transmembrane Proteins*. *Biochemistry* 45: 14559-66, 2006.
- Steiner F et al. *Control of electroosmotic flow in nonaqueous capillary electrophoresis by polymer capillary coatings*. *Electrophoresis* 24:399-407, 2003.
- Stroylova YY et al. *Aggregation and structural changes of α S1-, β - and κ -caseins induced by homocysteinylation*. *Biochim Biophys Acta*, 1814:1234-45, 2011.

Alvarez

DRA. ALCIRA B. NESSE
Profesora Opto. Oca. Biológicas
F.C.E. y N. - U.B.A.

Dr. Marcelo March
DIRECTOR
Dto. QUÍMICA BIOLÓGICA
FCE y N. - U.B.A.



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Referencia Expte. N° 503.853/14

Buenos Aires,

31 JUL 2017

VISTO:

la nota a fojas 38 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 7 al 18 de agosto de 2017 por la Dra. Alcira Nesse, con la colaboración de la Dra. Danierla Vittori, la Dra. María Eugenia Chamorro, la Dra. Valeria Genoud, la Lic. Silvana Gionco y la Lic. Romina Maltanerí,

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 N° 113° del Estatuto Universitario,

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

Artículo 1°: Autorizar el dictado del curso de posgrado **TÉCNICAS ELECTROFORÉTICAS: FUNDAMENTOS Y APLICACIONES** de 65 hs. de duración.

Artículo 2°: Aprobar el programa del curso de posgrado **TÉCNICAS ELECTROFORÉTICAS: FUNDAMENTOS Y APLICACIONES**, obrante a fs 40 y 41 del expediente de la referencia.

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

Artículo 4°: Aprobar un arancel de 1200 módulos. Disponer que los fondos recaudados ingresen en la cuenta presupuestaria habilitada para tal fin, y sean utilizados de acuerdo a 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°: Comuníquese a la Dirección de Alumnos, a la Dirección de Presupuesto y Contabilidad, a la Dirección de Movimiento de Fondos y a la Secretaría de Posgrado. Cumplido archívese.

Resolución CD N°
SP / ga / 30/06/2017

1796

Dr. JOSÉ CLABE IPARRAGUIRRE
SECRETARIO DE POSGRADO
FCEN - USA

Dr. JUAN CARLOS REBORES
DECANO