

2.38. AISLAMIENTO Y ESTUDIO DE PROTEÍNAS

Tipo de curso: teórico y práctico

Evaluación: 75% de asistencia y examen final escrito

Carga horaria: 60 horas total

Los gastos de reactivos y material descartable será prorrateado entre los participantes. No incluyen el costo de fotocopias y separatas

Director: Dr. Eduardo Ceccarelli.

OBJETIVOS

Se propone profundizar el conocimiento en técnicas actuales para la obtención de proteínas puras de fuentes naturales o mediante expresión heteróloga en distintos organismos, como así también el análisis de la integridad y pureza de las proteínas obtenidas. Además, se presentan un conjunto seleccionado de métodos para el análisis de estructuras de proteínas y su relación con la funcionalidad de las mismas. Se propone analizar sistemas que permitan identificar proteínas, la detección de interacciones entre ellas o de éstas con otras macromoléculas. Al completar el curso, el estudiante dispondrá de conocimiento para obtener proteínas y analizarlas mediante un conjunto de metodologías actuales para el estudio las mismas.

PROGRAMA

TEORIA

Metodologías generales para la purificación de proteínas. Extracción, estabilización y purificación de proteínas de diferentes organismos y tejidos. Pasos iniciales de aislamiento y purificación. Desalado y concentración de proteínas. Métodos cromatográficos convencionales. Estabilización y conservación de proteínas. Determinación de calidad y pureza de proteínas purificadas

Metodologías para la expresión heteróloga de proteínas. Elección del sistema de expresión: Bacterias, levaduras y cultivos celulares como sistemas de expresión. Producción de proteínas recombinantes en bacterias. Preparación de proteínas a partir de extractos. Obtención de proteínas a partir de cuerpos de inclusión. Proteínas de fusión para la purificación de proteínas recombinantes.

Estudio del Plegamiento de proteínas. Bases teóricas sobre el plegamiento de proteínas. Plegamiento asistido. Plegamiento *in vivo* e *in vitro*.

Estabilidad, plegamiento y ensamble. Estudio de proteínas mediante análisis de secuencias. Métodos de observación y análisis de estructuras cristalográficas disponibles en bancos de datos. Predicción y comparación de estructuras.

Proteómica

HPLC, FPLC. Bases del análisis de proteínas por espectrometría de masas. Electroforesis bidimensional. Identificación de proteínas. Determinación de interacciones proteína-proteína. Conceptos básicos. Entrecruzamiento químico. Detección de interacciones por co-precipitación. Utilización de anticuerpos, proteínas de fusión, proteínas inmovilizadas. Cuantificación de proteínas.

PRACTICA

Se realizarán, dependiendo de la disponibilidad de material y tiempo, una o más de las siguientes actividades:

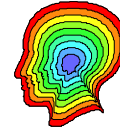
1- Digestión de proteínas con enzimas proteolíticas específicas. realizar identificación de proteínas mediante proteólisis limitada. 2- Determinación del estado de plegamiento mediante proteólisis limitada. 4- Sobreexpresión de una proteína transgénica en bacterias, separación cromatográfica de la misma y análisis por electroforesis en condiciones disociantes. Comparación entre dos o más sistemas de expresión.



FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

Santa Fe 3100

2000 Rosario



DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMEDICAS

Posgrado Acreditado por la CONEAU Res. 529/99 y 240/08

BIBLIOGRAFÍA

Se lista solo la bibliografía básica del curso. A los alumnos del curso se le da acceso a un sitio en la nube donde se ofrecen una serie de separatas y libros en PDF para completar la bibliografía relacionada a las temáticas del curso.

Current Protocols in Protein Science (2010) y suplementos de actualizaciones sucesivas. Wiley. Varios autores

Insoluble Proteins. Methods and Protocols. (2015) Elena García-Fruitós Ed. Humana Press. Springer

Altelaar, A.F.M., Munoz, J. and Heck, A.J.R. (2012) Next-generation proteomics: towards an integrative view of proteome dynamics. *Nat. Rev. Genet.*, 14, 35–48.

A Practical Handbook of Preparative HPLC (2006) Donald A. Wellings. Elsevier

Guide to Protein Purification (2009), Richard R. Burgess and Murray P. Deutscher, eds. Elsevier

The Protein Protocols Handbook (2002) 2nd Edition, John M. Walker; Humana Press. Springer