

Curso de posgrado:
PURIFICACIÓN DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES

CURSO DE POSGRADO

**PURIFICACIÓN DE
PROTEÍNAS RECOMBINANTES**

Aprobado por Resolución FAA 752/2026 | 50 hs de duración

MODALIDAD: Híbrida - Estrategia Mixta (parcialmente optativa)

FECHAS: 16, 19, 23, 26, 30 de noviembre y 3, 7, 10, 14, 17, 21 de diciembre.

Lunes y Jueves | 15:00 a 17:00 hs.

Fecha límite de inscripción: 12/11/2026

DOCENTES RESPONSABLES:

Dr. Javier M. González

AUXILIAR DE LABORATORIO:

Lic. Andrea Zerda Moreira

DIRIGIDO A PROFESIONALES DE

Licenciatura en Biotecnología, Licenciatura y
Profesorado en Química, Bioquímica y
carreras afines.

CUPOS: Mínimo 20 estudiantes | Máximo 40

ARANCELES:

Estudiantes de posgrado FyA con
cuotas al día: \$ 55.000

Docentes y estudiantes de grado
FyA: \$55000

Estudiantes de posgrado
interfacultad: \$65000

Estudiantes del Doctorado en
Ciencias Agronómicas y Maestría
en Producción Animal: \$65.000

Estudiantes externos: \$80.000

Consultas

secretariaposgradofaya@gmail.com

Inscripción

<https://faya-control.unse.edu.ar/posgradoautogestion>



UNSE
Universidad Nacional
de Santiago del Estero

Programa Analítico:

UNIDAD I: Estrategias y generalidades sobre la purificación de proteínas. Objetivos y planificación de una purificación. Métodos bioinformáticos para estimar las propiedades de una proteína a partir de su secuencia de aminoácidos. Consideraciones para proteínas de membrana. Errores y problemas comunes.

UNIDAD II: Predicción de estructuras a partir de la secuencia. Modelado por homología. Modelado por aprendizaje automático. Colabfold y AlphaFold3. Visualización de estructuras con PyMOL y ChimeraX. Uso de modelos moleculares para estimación de propiedades fisicoquímicas de las proteínas.

UNIDAD III: Métodos generales para manejo de proteínas. Composición química de soluciones para almacenamiento y medida de actividad de enzimas. Buffers orgánicos. La actividad enzimática como control de calidad de una muestra de enzima. Cuantificación de proteínas por métodos espectroscópicos y químicos. Concentración de soluciones de proteínas e intercambio de solutos: diálisis, filtración en geles, ultrafiltración por presión y centrifugación, liofilización, precipitación con sulfato de amonio, cristalización. Estabilidad de muestras de proteínas. Causas de inactivación.

UNIDAD IV: Introducción a la expresión de proteínas recombinantes. Elección de la especie de células para producción de proteínas. Sistemas procariotas y eucariotas: ventajas y desventajas. Uso de codones. Proteínas de secreción y formación de puentes disulfuro. Proteínas citoplasmáticas y de membrana. Proteínas tóxicas. Co-expresión de chaperonas. Preparación de extractos celulares. Métodos para ruptura y fraccionamiento celular. Aislamiento de organelas y estructuras sub-celulares. Eliminación de ácidos nucleicos.

UNIDAD V: Vectores de expresión. Promotores. Estrategias de clonado, mutagénesis y construcción de vectores. Proteínas de fusión para mejorar solubilidad de proteínas. Proteínas de fusión a tags para cromatografía de afinidad. SnapGene.

UNIDAD VI: Expresión de proteínas heterólogas en *Escherichia coli*. El operón *lac*. Selección de cepas de expresión. Expresión citoplasmática y periplásmica. Sistemas de expresión inducibles. Los vectores pET. Medios de autoinducción. Purificación en condiciones desnaturalizantes. Renaturalización de proteínas a partir de cuerpos de inclusión.

UNIDAD VII: Expresión de proteínas heterólogas en *Pichia pastoris*. Generalidades sobre la expresión en levaduras y hongos. Modificaciones post-traduccionales. Expresión de proteínas heterólogas en células de insectos. Baculovirus. Expresión transiente de proteínas heterólogas en células de mamífero.

UNIDAD VIII: Métodos cromatográficos. Cromatografía de media presión FPLC. Cromatografía de intercambio iónico. pH isoelectrico y carga eléctrica superficial de una proteína. Cromatografía de exclusión molecular. Matrices. Resolución. Determinación de estructura cuaternaria y peso molecular. Uso de patrones y calibración. Cromatografía de interacción hidrofóbica. Fundamento. Matrices.

UNIDAD IX: Cromatografía FPLC. Cromatografía de afinidad. Comparación con otros métodos. Fundamento. Matrices. Cromatografía de afinidad por iones metálicos inmovilizados (IMAC). Regeneración de matrices. Protocolos. Purificación de proteínas de membrana. Preparación de muestras. Solubilización con detergentes. Expresión en sistemas libres de células.

UNIDAD X: Muestras de proteínas purificadas. Caracterización. Pureza. Peso molecular. Concentración. Estabilizantes y aditivos. Estructura cuaternaria. Presencia de modificaciones post-traduccionales. Posibles contaminantes. Artefactos comunes durante la purificación de una proteína.

CLASE PRACTICA DE FPLC: Procesos básicos de manejo del sistema FPLC Äkta Pure. Purificación de la proteína verde fluorescente en un sistema FPLC Äkta Pure.

Objetivos generales

Que el alumno sea capaz de:

- *Adquirir una comprensión integral de las diversas estrategias y consideraciones en la purificación de proteínas, desde la planificación hasta la ejecución y resolución de problemas.*
- *Aprender a utilizar herramientas bioinformáticas y técnicas de modelado para predecir las propiedades y estructuras de las proteínas a partir de sus secuencias de aminoácidos.*
- *Obtener competencias en la manipulación y conservación de proteínas, incluyendo métodos de cuantificación, almacenamiento y control de calidad.*
- *Comprender los principios y técnicas de la expresión de proteínas recombinantes en diversos sistemas biológicos, así como la construcción y uso de vectores de expresión.*
- *Aprender y aplicar distintos métodos cromatográficos para la purificación y análisis de proteínas, evaluando sus ventajas y desventajas.*
- *Desarrollar habilidades para la caracterización detallada de proteínas purificadas, incluyendo su pureza, peso molecular, estructura cuaternaria y presencia de modificaciones post-traduccionales.*

Objetivos específicos

Que el alumno sea capaz de:

- *Planificar estrategias efectivas para la purificación de proteínas.*
- *Utilizar métodos bioinformáticos para estimar propiedades proteicas a partir de secuencias de aminoácidos.*
- *Elegir adecuadamente las especies celulares y sistemas de expresión (procariotas y eucariotas) para la producción eficiente de proteínas recombinantes.*
- *Diseñar y construir vectores de expresión eficaces, aplicando estrategias de clonado y mutagénesis para la producción de proteínas recombinantes con las características deseadas.*
- *Aplicar técnicas de cromatografía de media presión (FPLC) para la purificación de proteínas, mediante las cromatografías de intercambio iónico, exclusión molecular, interacción hidrofóbica, y de afinidad (IMAC).*

Bibliografía

Burgess, R.R. & Deutscher, M.P., Eds. (2009) *Methods in Enzymology* vol. 463: *Guide to Protein Purification*, 2nd Edition. Elsevier.

Bose K., Ed. (2022) *Textbook on Cloning, Expression and Purification of Recombinant Proteins*. Springer.

Manuales Cytiva: <https://www.cytivalifesciences.com/en/us/support/handbooks>

16189_10061 ÄKTA Laboratory-scale Chromatography Systems

15680_10061 Strategies for protein purification

11660_10061 Affinity Chromatography - Vol 1 Antibodies

11495_10061 Affinity Chromatography - Vol 2 Tagged proteins

11485_10061 Affinity Chromatography - Vol 3 Specific Groups of Biomolecules

11639_10061 Size Exclusion Chromatography

27130_10061 Purifying challenging proteins

13101_10061 Ion exchange Chromatography

Hydrophobic-Interaction-Reversed-Phase-Chromatography-Handbook-CY11248-28Sep22-HB

Metodología

Todas las clases tendrán la modalidad teórico-práctica del tipo aula-taller (11 sesiones, 2 sesiones por semana). En la misma se realiza una exposición de los conceptos de cada Unidad temática por parte del docente, seguida por actividades prácticas individuales o grupales. Las mismas se realizarán en el aula total o parcialmente (en cuyo caso quedará como tarea para la siguiente clase), y finalizan con una breve discusión o debate para definir las conclusiones. La clase práctica de FPLC se realizará con un cromatógrafo FPLC Äkta Pure (Cytiva) para fortalecer la experiencia de los estudiantes. El mismo está ubicado en el área Biología Molecular del Instituto de Bionanotecnología del NOA (INBIONATEC, CONICET-UNSE), predio de la FAyA en El Zanjón.

Modalidad de Evaluación

Aprobación del curso: aprobación de examen final con nota igual o mayor a 7 (siete); y asistencia al 60 % de las clases teórico-prácticas (6 sesiones), más la clase práctica obligatoria de FPLC (sesión 11). La nota final pondera también las asistencias y participación en todos los encuentros programados. El curso no es promocionable.