



Universidad Nacional de San Luis
Rectorado

"2021 - AÑO DE HOMENAJE AL PREMIO NOBEL
DE MEDICINA DR. CÉSAR MILSTEIN"

SAN LUIS, 08 NOV. 2021

VISTO:

El Expediente EXP-USL: 20011/2019 mediante el cual se solicita la protocolización del Curso de Posgrado: ENZIMAS VEGETALES NATIVAS Y RECOMBINANTES. AISLAMIENTO, PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA;

CONSIDERANDO:

Que el Curso de Posgrado se propone dictar en el ámbito de la Facultad de Química Bioquímica y Farmacia del 16 al 23 de noviembre de 2021 con un crédito horario de 40 horas presenciales y bajo la coordinación de la Dra. Evelina QUIROGA.

Que la Comisión Asesora de Posgrado de la Facultad de Química Bioquímica y Farmacia recomienda aprobar el curso de referencia.

Que el Consejo de Posgrado de la Universidad Nacional de San Luis en su reunión del 02 de noviembre analizó la propuesta y observa que el programa del curso, bibliografía, metodología de evaluación y docentes a cargo, constituyen una propuesta de formación de posgrado de calidad en su campo específico de estudio.

Que, por lo expuesto, el Consejo de Posgrado aprueba la propuesta como Curso de Posgrado, según lo establecido en Ordenanza CS N° 35/2016.

Que la RCS N° 400/2020 contiene las decisiones y propuestas de funcionamiento de las actividades de posgrado en el marco de la situación sanitaria vigente COVID - 19, y que esta actividad se enmarca en las acciones orientadas a continuar y sostener el dictado de las actividades previstas en cronogramas de estudiantes y propuestas.

Que corresponde su protocolización.

Por ello y en uso de sus atribuciones:

EL RECTOR DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS

RESUELVE:

ARTÍCULO 1°.- Protocolizar el dictado del Curso de Posgrado: ENZIMAS VEGETALES NATIVAS Y RECOMBINANTES. AISLAMIENTO, PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA del 16 al 23 de noviembre de 2021 en el ámbito de la Facultad de Química Bioquímica y Farmacia con un crédito horario de 40 presenciales.

ARTÍCULO 2°.- Protocolizar el cuerpo docente constituido por: responsable Dr. Walter David OBREGÓN (DU N.º 23810093) de la Universidad Nacional de La Plata, y auxiliares Dra. María Cecilia DELLA VEDOVA (DU N.º 31845611) de la Universidad Nacional de San Luis y Dra. Juliana COTABARREN (DU N.º 34138677) de la Universidad Nacional de La Plata.

Cpde. RESOLUCIÓN R N° 1815

CPN Victor A. Morfígo
Rector - UNSL

Dra. Nora Reyes
Secretaría de Posgrado
UNSL



Universidad Nacional de San Luis
Rectorado

"2021 - AÑO DE HOMENAJE AL PREMIO NOBEL
DE MEDICINA DR. CÉSAR MILSTEIN"

ARTÍCULO 3º.- Aprobar el programa del Curso de referencia, de acuerdo al ANEXO de la presente disposición.-

ARTÍCULO 4º.- Comuníquese, insértese en el Libro de Resoluciones, publíquese en el Digesto Electrónico de la UNSL y archívese.-

RESOLUCIÓN R N°
NV

1815

Dra. Nora Reyes
Secretaría de Posgrado
UNSL

CPN Victor A. Morfigo
Rector - UNSL



Universidad Nacional de San Luis
Rectorado

"2021 - AÑO DE HOMENAJE AL PREMIO NOBEL
DE MEDICINA DR. CÉSAR MILSTEIN"

ANEXO

IDENTIFICACIÓN DEL CURSO

UNIDAD ACADÉMICA RESPONSABLE: Facultad de Química Bioquímica y Farmacia

DENOMINACIÓN DEL CURSO: ENZIMAS VEGETALES NATIVAS Y RECOMBINANTES. AISLAMIENTO, PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA

CATEGORIZACIÓN: Perfeccionamiento.

FECHA DE DICTADO DEL CURSO: del 16 al 23 de noviembre de 2021

MODALIDAD DE DICTADO: Presencial

Debido a la situación epidemiológica que atraviesa el territorio nacional por el COVID 19 y las medidas de distanciamiento social vigente en el territorio de la Provincia de San Luis, el curso se dictará, utilizando herramientas tecnológicas sincrónicas, y asincrónicas, garantizando la disponibilidad de contenidos, bibliografía, trabajos prácticos, y la posibilidad de ofrecer consultas a los estudiantes. Todas las actividades se llevarán a cabo haciendo uso de las plataformas CANVAS y Google Meet.

CRÉDITO HORARIO TOTAL: 40 horas (20 hs. teóricas y 20 hs. de prácticas de laboratorio)

COORDINADORA: Dra. Evelina QUIROGA (DU N.º 20828645)

EQUIPO DOCENTE

RESPONSABLE: Dr. Walter David OBREGÓN

AUXILIARES: Dra. María Cecilia DELLA VEDOVA y Dra. Juliana COTABARREN

PROGRAMA ANALÍTICO

FUNDAMENTACIÓN:

Muchos trabajos de tesis doctorales en el área de las ciencias naturales incluyen metodologías de purificación de proteínas para el desarrollo de sus planes. La mayor parte de los doctorandos ha tenido poca experiencia práctica durante su carrera de grado o ha recibido contenidos mínimos sobre esta temática. Lo mismo sucede con el caso de diversas técnicas de biología molecular, ya sea PCRs, transformaciones, uso de enzimas de restricción, etc. Este curso brinda los conceptos básicos integrales en las temáticas mencionadas. Asimismo posibilita el adiestramiento y conocimiento inicial de investigadores o profesionales ligados a la industria biotecnológica y/o farmacéutica que necesitan de proteínas recombinante puras para su comercialización.

OBJETIVOS

Desde el dictado del curso se propone:

Cpde. ANEXO RESOLUCIÓN R N°

1815

CPN Victor A. Morinigo
Rector - UNSL

Dra. Nora Reyes
Secretaría de Posgrado
UNSL



Universidad Nacional de San Luis
Rectorado

"2021 - AÑO DE HOMENAJE AL PREMIO NOBEL
DE MEDICINA DR. CÉSAR MILSTEIN"

2

Alcanzar los conocimientos mínimos de aislamiento y caracterización de proteínas vegetales;

Incorporar al conocimiento los principios básicos de clonado y expresión de proteínas recombinantes;

Familiarizarse con técnicas de uso común en estas temáticas tales como electroforesis, cromatografía, PCRs, clonado;

Adquirir conceptos básicos de enzimología, cinética enzimática y de inhibición.

CONTENIDOS MÍNIMOS

Extracción y aislamiento de proteínas nativas a partir de muestras vegetales.

Purificación de proteínas mediante técnicas cromatográficas y de electroforesis.

Cinética enzimática y de inhibición de enzimas.

Principios básicos de clonado y expresión de proteínas.

PROGRAMA DETALLADO:

Procesos de extracción y purificación de proteínas vegetales. Precipitación, tratamientos térmicos, ultrafiltración, centrifugación.

Cromatografía de exclusión molecular. Cromatografía de intercambio iónico. Cromatografía de afinidad. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC y FPLC).

Identificación de proteínas mediante herramientas proteómicas de secuenciación y espectrometría de masas.

Caracterización enzimática. Determinación de parámetros cinéticos. Inhibidores enzimáticos. Sustratos naturales y sintéticos.

Obtención de hidrolizados a partir de polímeros naturales.

Electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) en condiciones no desnaturizantes y desnaturizantes con SDS.

Isoelectroenfoque. Zimograma.

Electroforesis bidimensional. Western Blot.

Principios básicos de clonado y expresión recombinante de proteínas. RT-PCR. Vectores de clonado y expresión. Enzimas de restricción, ligación, transformación. Diseño de mutantes recombinantes.

Purificación, identificación y caracterización de enzimas recombinantes.

SISTEMA DE EVALUACIÓN:

Se solicitará la asistencia de un 80% a clases teóricas y 100% a clases prácticas.

Examen final: presentación escrita individual


CPN Victor A. Morfigo
Rector - UNSL


Dra. Nora Reyes
Secretaría de Posgrado
UNSL

Cpde. ANEXO RESOLUCIÓN R N° **1815**



Universidad Nacional de San Luis
Recibido

BIBLIOGRAFÍA

- Amersham Pharmacia Biotech. (1999). Affinity chromatography: principles and methods – Protein Purification: Handbook.
- Bradford M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72:248-254.
- Campbel M.K. and Farrell S.O. (2016). *Bioquímica*. Ed. Cengage Earning. 8va edición.
- Cutler P. (2010). *Protein Purification Protocols: Methods in Molecular Biology*, 244. Ed. Springer-Verlag, New York.
- Janson J.C. and Ryden L. (1989). *Protein purification: principles, high resolution methods and applications*. VCH Publishers Inc. New York.
- Laemmli U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227:680-685.
- Lenhinger A. (2014). *Principios de Bioquímica*. Barcelona. Ed. Omega. 6a edición.
- Price NC and Stevens L (1999). *Fundamentals of Enzymology: The cell and molecular biology of catalytic proteins*: Oxford University Press. Cap. 2: "The purification of enzymes".
- Sambrook J. and Russell D.W. (2001). *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*. Third Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
- Scopes R.K. (1993). *Protein purification: principles and practice*. 3° Edition. Springer, New York.
- Voet-Voet- Pratt (2009). *Fundamentos de Bioquímica*. Editorial Médica Panamericana., Buenos Aires. 2° edición.
- Lazza C.M., Trejo S.A., Obregón W.D., Pistaccio L.G., Caffini N.O. and López L.M.I. (2010). "A Novel Trypsin and α -Chymotrypsin Inhibitor from *Maclura pomifera* Seeds". *Letters in Drug Design & Discovery*, Bentham Science Publishers Ltd. Vol. 7, No. 4, 244-249.
- Llorente, B., Obregón W.D., Avilés F.X., Caffini N. and Vairo Cavalli S. (2014). "Use of artichoke (*Cynara scolymus*) flower extract as a substitute for bovine rennet in the manufacture of Gouda-type cheese: characterization of aspartic proteases". *Food Chemistry*. Volume 159, Pages 55–63.
- Rocha G.F., Obregón W.D., Muñoz F., Guevara M.G., Fernández G., Rosso A.M. and Parisi M.G. (2015). Isolation and characterization of an Aspartic Protease from *Salpichroa organifolia* Fruits. *Protein & Peptide Letters*, 22.
- Obregón W.D., Cisneros J.S., Ceccacci F. and Quiroga E. "A highly stable biocatalyst obtained from covalent immobilization of a non-commercial cysteine phytoprotease".(2015). *J Bioprocess Biotech*, 5:3.


CPN Victor A. Morfínigo
Rector - UNSL


Dra. Nora Reyes
Secretaría de Posgrado
UNSL



Universidad Nacional de San Luis
Rectorado

- Lufrano D., Cotabarren J., Garcia-Pardo J., Tort O., Tanco S., Avilés F.X., Lorenzo J. and Obregón W.D. (2015). "Biochemical characterization of a new carboxypeptidase inhibitor from a variety of Andean potatoes" *Phytochemistry* 120, pp 36-45.
- Tellechea M. E.; Garcia-Pardo J.; Cotabarren J.; Lufrano D.; Bakas L.; Avilés F. X.; Obregón W.D.; Lorenzo J.; Tanco S. (2016). Microplate Assay to Study Carboxypeptidase A Inhibition in Andean Potatoes. *Bioprotocol*. 6(23).
- Cotabarren J., Tellechea M.E., Avilés F.X., Lorenzo J., Obregón W.D. (2018). "Biochemical characterization of the YBPCI miniprotein, the first carboxypeptidase inhibitor isolated from Yellow Bell Pepper (*Capsicum annuum* L). A novel contribution to the knowledge of miniproteins stability". *Protein Expression and Purification* 144, pp 55-61.
- Cotabarren J., Tellechea M.E., Tanco S.M., Lorenzo J., Garcia-Pardo J., Avilés F.X., Obregón W.D. (2018). "Biochemical and MALDI-TOF Mass Spectrometric Characterization of a Novel Native and Recombinant Cystine Knot Miniprotein from *Solanum tuberosum* subsp. *andigenum* cv. Churqueña". *International Journal of Molecular Sciences*.; 19, 678.
- Cotabarren, J., Rosso, A.M., Tellechea, M., García-Pardo, J., Lorenzo-Rivera, J., Parisi, M.; Obregón, W.D. (2019). "Adding value to the chia (*Salvia hispanica* L.) expeller: Production of bioactive peptides with antioxidant properties by enzymatic hydrolysis with Papain". *Food Chemistry*, 274, pp 848-856.

CPN Victor A. Morán
Rector - UNSL

CARACTERÍSTICAS DEL CURSO

DESTINATARIOS Y REQUISITOS DE INSCRIPCIÓN: Licenciados en Biología Molecular, Licenciados en Biotecnología, Licenciado en Ciencias Biológicas, Licenciados en Bioquímica, Farmacéuticos, Licenciados en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, carreras afines.

CUPO: Máximo: 20 alumnos

PROCESO DE ADMISIÓN: estar inscripto en una carrera de Posgrado o pertenecer a un proyecto de investigación de una Universidad Pública Nacional. En el caso de que el número de inscriptos supere el cupo máximo establecido, la selección se realizará fijando un cupo por carrera y considerando el mayor avance en su trabajo de tesis.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES:

Fecha	Tipo de actividad /temas a desarrollar	Responsable/s	Ámbito/plataforma digital
Martes 16/11/21	Extracción y aislamiento de Proteínas Vegetales Ensayos de cinética enzimática e inhibición de enzimas.Parte práctica.	Dr. Walter David Obregón	Presencial

Nora Reyes
Dra. Nora Reyes
Secretaria de Posgrado
UNSL



Universidad Nacional de San Luis
Rectorado

"2021 - AÑO DE HOMENAJE AL PREMIO NOBEL
DE MEDICINA DR. CÉSAR MILSTEIN"

5

Miércoles 17/11/21	Técnicas electroforéticas para la separación e identificación de proteínas. Purificación de Proteínas mediante cromatografía. FPLC, HPLC y proteómica Parte práctica.	Dr. Walter David Obregón	Presencial
Jueves 18/11/21	Principios básicos de Biología Molecular Técnicas de Biología Molecular, PCR, Secuenciación. Parte práctica.	Dr. Walter David Obregón	Presencial
Viernes 19/11/21	Parte práctica (día completo)	Dr. Walter David Obregón / Auxs.	Presencial
Lunes 22/11/21	Parte práctica	Dr. Walter David Obregón / Auxs.	Presencial
Martes 23/11/21	Examen final	Dr. Walter David Obregón	Presencial

LUGAR DE DICTADO: FQBYF. Laboratorio de membranas y biomateriales

FECHA PREVISTA PARA ELEVAR LA NÓMINA DE ALUMNOS APROBADOS: 04 de diciembre de 2021.

FINANCIAMIENTO DEL CURSO

COSTOS: Honorarios, viáticos y traslado.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO: Programa de Capacitación Docente Gratuita y Capacitación en Condiciones de Medio Ambiente de Trabajo" administrado por SIDIU-SL

ARANCEL GENERAL: gratuito

Victoria Reyes
Dra. Nora Reyes
Secretaría de Posgrado
UNSL

Cpde. ANEXO RESOLUCIÓN R N°

1815