



## PROGRAMA DE ACTIVIDAD CURRICULAR

**Seminario:** Separación y Purificación de Biomoléculas

**Carga horaria Total:** 60

**Profesor:** Dr. Nicolás Urtasun

### Objetivos

Adquirir las herramientas básicas para el diseño de tecnologías involucradas en procesos de separación y purificación de productos

### Contenidos

#### 1. Introducción al *Downstream Processing*.

Bioteecnologías clásica, moderna y parciales. Breve historia de la purificación de proteínas. Técnicas de recuperación y purificación de productos. Parámetros de evaluación de un proceso de purificación.

#### 2. Ruptura celular.

Localización intracelular del producto de interés. Extracción de proteínas de membrana. Extracción de proteínas en cuerpos de inclusión. Factores de los que depende la ruptura celular. Métodos químicos y enzimáticos. Métodos físicos: no mecánicos y mecánicos (agitación con abrasivos y homogeneización a alta presión).

#### 3. Separación sólido-líquido.

Clarificación de cultivos. Centrifugación y filtración. Procesos en *batch* y continuos. Sistemas de membrana: microfiltración, ultrafiltración y ósmosis reversa. Cambio de buffer, desalado y concentración por ultrafiltración.

#### 4. Precipitación.

Fundamentos. Modo operativo: precipitación negativa- positiva. Métodos de precipitación según el agente precipitante: *Salting-out*, solventes orgánicos, precipitación isoeléctrica, polímeros no iónicos, polielectrolitos, precipitación térmica. *Scale up*.

#### 5. Partición en sistemas dos fases acuosas.

Tipo de sistemas. Diagrama de fases. Factores que determinan la partición.

#### 6. Cromatografía de exclusión molecular.

Mecanismo y características de *gel filtration*. Clasificación de las matrices cromatográficas. Curva de selectividad. Aplicaciones.



### **7. Cromatografía de interacción hidrofóbica.**

Fundamento. Características de las matrices. Tipos de ligando. Factores que afectan la interacción. Adsorción-desorción de las proteínas.

### **8. Cromatografía de intercambio iónico.**

Fundamento y mecanismo de la separación. Punto isoeléctrico de proteínas. Curva de titulación electroforética. Tipo de intercambiadores.

Capacidad de una matriz. Condiciones de adsorción y elución de la muestra. Escalado y aplicaciones.

### **9. Cromatografía de afinidad.**

Mecanismo. Ligandos de afinidad. Inmovilización del ligando a la matriz. Elución selectiva de la proteína a purificar. Cromatografía de afinidad con iones metálicos inmovilizados (IMAC). Isotermas de adsorción. Curvas de *breakthrough*.

### **10. Estrategias de purificación de proteínas recombinantes.**

### **11. Diseño y optimización de un proceso de purificación.**

### **12. Control de calidad de los bioproductos.**

#### **Formación práctica**

Se trabajará durante la cursada con casos de bibliografía que se discutirán en grupo y serán supervisadas por los docentes a cargo. No están contempladas actividades de laboratorio.

#### **Requisitos de aprobación y promoción**

El alumno debe cumplir con el 80% de asistencia regular a las clases y aprobar los trabajos solicitados.

#### **Modalidad de Evaluación**

La materia se aprobará mediante la realización de trabajos de discusión de papers (en grupo durante la cursada, y uno individual al final del curso), además de una evaluación escrita final.

#### **Cronograma de cursada:**

- sábado 8 de julio de 9 a 13 y de 14 a 18 horas
- viernes 4 de agosto de 18:30 a 22:00 horas
- sábado 5 de agosto de 9 a 13 y de 14 a 18 horas
- viernes 25 de agosto de 18:30 a 22:00 horas
- sábado 26 de agosto de 9 a 13 y de 14 a 18 horas



- viernes 8 de septiembre de 18:30 a 22:00 horas
- sábado 9 de Septiembre de 9 a 13 y de 14 a 18 horas
- viernes 29 de septiembre de 18:30 a 22:00 horas

### **Bibliografía**

- Nikolaos, E. L. **Protein Downstream Processing. Design, Development and Application of High and Low-resolution Methods**, 2014. New York, Estados Unidos. Humana Press Springer.
- Moo-Young M, Butler M, Webb C, Moreira A, Grodzinski B, Cui Z F and Agathos, S (Eds.); 2011. **Comprehensive Biotechnology**, 2nd Edition. Amsterdam, Holanda. Elsevier.
- Janson, J.C. **Protein purification. Principles, High resolutions methods, and Applications**, 3rd Edition, 2011. Estados Unidos. Wiley-VCH.
- Burgess, R. R., Deutscher, M. P. **Guide to protein purification**, 2nd edition, 2009. Amsterdam, Holanda. Elsevier.
- Rehm, H. J., Reed, G. **Biotechnology: Bioprocessing, Volume 3**, 2nd Edition, 2008. Estados Unidos. Wiley-VCH.