



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular

Ficha 2 (variável)

Disciplina: Purificação e Processamento de Proteínas						Código: BQ023			
Natureza: () Obrigatória (X) Optativa			(X) Semestral					() Anual	() Modular
Pré-requisito: -		Co-requisito: -		Modalidade: (X) Totalmente Presencial () Totalmente EAD () Parcialmente EAD: _____*CH					
CH Total: 30 CH Semanal: 02 Prática como Componente Curricular (PCC): Atividade Curricular de Extensão (ACE):	Padrão (PD): 03	Laboratório (LB): 0	Campo (CP): 0	Estágio (ES): 0	Orientada (OR): 0	Prática Específica (PE): 0	Estágio de Formação Pedagógica (EFP):		

EMENTA

Precipitação ("Salting-out" e solvente), cromatografia e exclusão (peneira molecular ou gel permeação), cromatografia de troca iônica, cromatografia de afinidade, cromatografia de interação hidrofóbica e em coluna de hidroxiapatita, FPLC, HPLC, Ultracentrifugação, filtração através de membranas (ultra filtração), diálise e eletrodialise, eletroforese em gel de poliacrilamida e isotrofocalização, eletroforese bidimensional e caracterização de proteínas: sequenciamento, *western blot* e espectroscopia de massa.

PROGRAMA (itens de cada unidade didática)

- Propriedades físico-químicas de proteínas
- Sistemas de super-expressão de proteínas
- Preparação de extrato livre células e protocolos para solubilização de proteínas in insolúveis
- Métodos para estimar concentração de proteínas
- Purificação de proteínas por cromatografia de troca-iônica
- Purificação de proteínas por cromatografia de afinidade
- Purificação de proteínas por cromatografia de gel filtração
- Purificação de proteínas por cromatografia de interação hidrofóbica
- Purificação de proteínas por cromatofocalização e coluna de hidroxiapatita
- Diálise, ultracentrifugação e técnica para concentração de proteínas
- Sistema FPLC e HPLC para purificação em pequena, média e larga escala

- Eletroforese de proteínas: nativa, desnaturante, isoeletrofocalização e eletroforese bidimensional
- Caracterização de proteína por Western-blot, sequenciamento e espectroscopia de massa

OBJETIVO GERAL

Ao final do curso o aluno deverá ser capaz de planejar *primers* para construção de plasmídeo para superexpressar uma proteína de interesse e planejar corretamente o protocolos de indução de sua expressão. Além disso, o aluno deverá entender os princípios teóricos e práticos de cada tipo de cromatografia líquida que pode ser usada para purificação de proteínas e planejar os protocolos de purificação, além de contornar problemas de baixa taxa de expressão e solubilidade de proteínas. O aluno também deverá ser capaz de entender os processos de caracterização de proteínas através de sequenciamento, espectroscopia de massa e *wethern blot*.

OBJETIVO ESPECÍFICO

- avaliar o melhor sistema de superexpressão para purificação de proteínas
- planejar protocolos de purificação de proteínas
- otimizar processos de purificação
- caracterizar proteína purificada

PROCEDIMENTOS DIDÁTICOS

A disciplina será desenvolvida mediante aulas expositivo-dialogadas (20%) quando serão apresentados os conteúdos curriculares teóricos e através de atividades de laboratório utilizando os seguintes recursos: quadro de giz, notebook e projetor multimídia, insumos de laboratório e softwares específicos. O restante da disciplina (80%) será desenvolvida usando a estratégia de aulas invertidas. Os alunos receberão o conteúdo de cada aula uma semana antes e deverão estudar . Os alunos serão dividido em grupos no início do semestre e a cada aula todos os grupos serão sorteados para explicar um tópico da matéria. A explicação será realizada por um aluno do grupo que também será sorteado no momento da explicação. Caso o aluno tenha dificuldades de explicar o professor auxiliará com perguntas e se necessário o resto do grupo poderá auxiliar na resposta.

FORMAS DE AVALIAÇÃO

A avaliação será realizada através de:

- 1) avaliações dissertativas individual de toda a matéria ministrada no semestre conforme cronograma, (nota de 0 a 10)
- 2) Apresentação de seminário sobre artigo de purificação de proteínas, conforme cronograma (nota de 0 a 10)
- 3) avaliação das apresentações diárias dos grupos (nota de 0 a 5)
- 4) avaliação dos exercícios realizados nas aulas práticas e relatórios (nota de 0 a 5)

As notas 3 e 4 serão somadas para compor uma avaliação que será somada com as notas da prova e seminários e dividida por 3 para compor a média do semestre

O aluno que obtiver média igual ou superior a 7 estará aprovado. O aluno que obtiver média inferior a 7 mas igual ou superior a 4 realizará prova final e deverá obter média igual ou superior a 5 para ser aprovado na disciplina.

BIBLIOGRAFIA BÁSICA

- DEUTSCHER, M. Guide to Protein Purification. Methods in Enzymology Series, Vol 182. 1ª ed.
- DRYER, R. L.; LATA, G. F. Experimental Biochemistry. Oxford University Press, 1989.
- HAMMES, B. D; RICKWOOD, D. Gel Electrophoresis of Protein: A Pratical Approach. 2ª ed. Oxford University Press, 1990.
- [SCOPES](#), R. S. Protein Purification: Principles and Practice. 2ª ed. Springer Verlag. 1988.

Artigos científicos selecionados e distribuídos pelo professor.

BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTAR

Sites de companhias:

<https://www.gelifesciences.com/en/br/support/documents-and-downloads/handbooks>

<http://lifeserv.bgu.ac.il/wb/zarivach/media/protocols/Novagen%20pET%20system%20manual.pdf>

<https://www.thermofisher.com/br/en/home/global/forms/life-science/protein-assay-technical-handbook-download.html>

<https://www.thermofisher.com/br/en/home/industrial/chromatography.html>

<https://www.thermofisher.com/br/en/home/industrial/chromatography.html>

<https://www.origene.com/products/proteins/custom-service>.



Documento assinado eletronicamente por **RODRIGO VASSOLER SERRATO, CHEFE DO DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA E BIOLOGIA MOLECULAR - BL**, em 08/06/2022, às 14:34, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida [aqui](#) informando o código verificador **4565157** e o código CRC **1224A6E8**.