



Disciplina: IQ056-Tópicos em Engenharia de Bioprocessos

Responsável: Sônia Maria Alves Bueno (alves@unicamp.br)

Período: 1 semestre de 2023

Estrutura: As aulas serão expositivas, utilizando power-point e apresentação de vídeos. Será realizado em cada aula uma discussão ou seminários de temas relevantes na área de Purificação de Bioprodutos por Cromatografia.

Avaliação: Dependendo do número de alunos efetivamente matriculados, serão feitos seminários (individual ou em dupla de alunos), projetos, análise de artigos científicos com apresentação oral e prova individual.

Programa:

Programa do Curso

A. Recuperação e Purificação de Bioprodutos - RPB

Conceitos sobre RPB. Bioprocesso típico. Estratégias para RPB.

B. Monitoramento da RPB

Técnicas usuais para quantificação, identificação e medida da atividade biológica.

C. Técnicas cromatográficas empregadas para purificação de bioprodutos

Conceito de cromatografia. Matrizes empregadas em cromatografia. Cromatografias: filtração em gel, troca iônica e interação hidrofóbica, interações mistas, fundamentos e aplicação.

D. Proteínas e interação molecular

Forças de associação intra e inter-molecular. Interações moleculares reversíveis nos sistemas biológicos. Conceito de afinidade. Constante de dissociação (K_d).

E. Separação baseada na afinidade: ligantes bioespecíficos

Cromatografia de afinidade. Matrizes orgânicas e inorgânicas utilizadas em cromatografia de afinidade. Ligantes bioespecíficos. Técnicas de imobilização de ligantes (imobilização covalente). Ativação da matriz, acoplamento do braço espaçador e do ligante, bloqueio dos grupos reativos remanescentes.

F. Separação baseada na afinidade: ligantes pseudobioespecíficos

Cromatografia de pseudobioafinidade. Ligantes pseudobioespecíficos: corantes, aminoácidos, peptídeos, quelatos metálicos, ligantes tiofílicos e outros. Cromatografia de afinidade com íons metálicos imobilizados - IMAC.

G. Adsorção

Isotermas de adsorção. Modelo de Langmuir. Determinação da constante de dissociação (K_d) e da capacidade máxima de adsorção (Q_m). Desvios do modelo de Langmuir e modelos aplicados para representação de dados de isotermas de adsorção. Curvas de ruptura e parâmetros importantes para ampliação de escala.

H. Outras técnicas de afinidade empregadas para purificação, depleção, remoção e estudos de proteínas

Partição em duas fases aquosas por afinidade. Precipitação por afinidade. Filtração por afinidade. Tratamento extracorpóreo. Noções sobre impressão molecular (Molecular imprinting).

Referências:

Bibliografia Recomendada

1. Lehninger, A. L. Princípios de Bioquímica, Sarvier, São Paulo, 2006.
2. Janson, J.C.; Rydén, L. Protein Purification. Principles, High Resolution Methods and Applications, VCH Publishers, 1989.
3. Hage, D.S. Handbook of Affinity Chromatography, Marcel Dekker, 2a edição, 2005.
4. Guide to Protein Purification, in Methods in Enzimology, vol 182, edited by Deutscher, M. P., Academic Press, 1990.
5. Harris, E.L.V.; Angal, S. Protein Purification Methods: A Practical Approach, IRL Press, 1989.
6. Hermanson, G. T.; Mallia, A. K.; Smith, P.K. Immobilized Affinity Ligand Techniques, Academic Press, 1992.
7. Artigos: serão indicados no decorrer do curso.