

CARTELERA N° 307/26

CURSOS DE POSGRADO

“Western Blot: Técnica y Aplicaciones en Investigación”

Responsable: Graciela Pedrana

Co-organizadores: Marcelo Rodríguez, Aldo Calliari

Créditos: 3

Horas: 45

Cupos: 15.

Horario: 9 a12.

Modalidad de dictado: Presencial Lugar: Sede central Facultad de Veterinaria

Período de dictado: 07/09/2026-28/09/2026 (lunes 7, 14, 21 y 28)

Período de inscripción: *12/08/2026-03/09/2026

Exclusivamente a través del SGAE* Les dejamos un [instructivo](#) de apoyo

Docentes participantes nacionales:

- Marcelo Rodríguez Piñón, Facultad de Veterinaria, Montevideo
- Aldo Calliari, Facultad de Veterinaria, Montevideo.
- Andrés Benítez, Facultad de Veterinaria, Montevideo.
- Gabriel Otero, Facultad de Veterinaria, Montevideo.

Colaboran en práctico:

- Gonzalo García
- Helen Viotti
- Silvana Soria

Contenidos Teóricos:

- Estructura y conformación proteica
- Dosificación de Proteínas
- Estrategias de inmunodetección
- Principios físico/químicos de la electroforesis
- Western Blotting

Antes de abordar la metodología de la técnica de Western Blot, es esencial que los estudiantes posean un entendimiento sólido de los principios físico/químicos de las técnicas de migración diferencial, enfocado a la electroforesis y de la biología de las proteínas que se van a analizar. Esto incluye la estructura primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria, y cómo la desnaturalización afecta la conformación necesaria para la separación por electroforesis. Se revisarán conceptos fundamentales como los puntos isoeléctricos (pI), el peso molecular, la hidrofobicidad, y la función de las modificaciones postraduccionales. Estos factores determinan críticamente la migración proteica, así como también se analizarán la elección de buffers de lisis, las condiciones de electroforesis, y la reactividad del anticuerpo en las etapas de inmunodetección.

Contenidos Prácticos:

1. Cuantificación de proteínas: Determinación de la concentración total de proteínas en una muestra biológica mediante métodos colorimétricos o espectrofotométricos (por ejemplo, Bradford, Lowry o BCA).
Conceptos de carga equivalente de proteínas totales en las siembras, variabilidad técnica y, reproducibilidad del ensayo.
2. Corrida Electroforética (SDS-PAGE): Separación de las proteínas de una muestra en un gel de poliacrilamida por aplicación de un campo eléctrico, basándose en su peso molecular y/o carga. Conceptos de movilidad electroforética y desnaturalización proteica por SDS.
3. Transferencia (Western Blot)
 - Western Blot de Transferencia Húmeda: Transferencia de proteínas desde el gel obtenido de la corrida de SDS-PAGE a una membrana de nitrocelulosa (PVDF). Concepto de transferencia de soporte aplicando un campo eléctrico.
 - Western Blot de Transferencia Semi-seca: Transferencia de proteínas desde el gel obtenido de la corrida de SDS-PAGE a una membrana de nitrocelulosa mediante una configuración de tipo sándwich con electrodos de placa y una cantidad mínima de tampón.
4. Inmunodetección
 - Detección por quimioluminiscencia: Incubación de la membrana de nitrocelulosa bloqueada con un anticuerpo primario (específico) y luego con un anticuerpo secundario conjugado a una enzima (ej., peroxidasa de rábano, HRP) y captura mediante rayos X o un equipo de imagen digital de la señal del sustrato quimioluminiscente. Conceptos de anticuerpo primario y especificidad, anticuerpo secundario conjugado y captura de quimioluminiscencia.

- **Detección por Fluorescencia:** Incubación de la membrana de nitrocelulosa bloqueada con un anticuerpo primario (específico) y luego con un anticuerpo secundario conjugado a un fluoróforo y captura de la señal fluorescente mediante la excitación lumínica a una longitud de onda específica y un escáner de fluorescencia. Conceptos de anticuerpo primario y especificidad, anticuerpo secundario conjugado y captura de fluorescencia.

Contenidos Teórico/Prácticos (taller):

1. **Análisis comparativo de ventajas y desventajas de la transferencia húmeda y semiseca, de la detección por quimioluminiscencia y por fluorescencia.**
2. **Análisis de Proteínas Fosforiladas o Modificadas:** Uso de anticuerpos de detección de sitios específicos, de fosforilación o de modificación post-traducciona (ej., acetilación, ubiquitinación). Concepto de estudio de vías de señalización celular.
3. **Optimización y Solución de Problemas (Troubleshooting):** Capacitar a los estudiantes para adaptar la técnica a diferentes tipos de muestras y condiciones experimentales, e identificar y resolver fallas comunes (artefactos, baja señal, alta inespecificidad).
4. **Análisis Cuantitativo:** Profundizar en los métodos para obtener datos cuantitativos, incluyendo el uso de controles de carga adecuados (proteínas housekeeping o stain-free technology) y la interpretación de resultados en relación con los estándares de publicación.

Bibliografía

Artículos de revisión

1. Ha, S. G., Park, J. H., Kim, M. Y., & Lee, S. V. (2025). Brief guide to western blot assays. *Molecules and Cells*, 48(12), 100297. <https://doi.org/10.1016/j.mocell.2025.100297>
2. Wang, Q., Han, W., Ma, C., Wang, T., & Zhong, J. (2023). Western blot normalization: Time to choose a proper loading control seriously. *Electrophoresis*, 44(9–10), 854–863. <https://doi.org/10.1002/elps.202200222>
3. Sule, R., Rivera, G., & Gomes, A. V. (2023). Western blotting (immunoblotting): History, theory, uses, protocol and problems. *BioTechniques*, 75(3), 99–114. <https://doi.org/10.2144/btn-2022-0034>
4. Pillai-Kastoori, L., Schutz-Geschwender, A. R., & Harford, J. A. (2020). A systematic approach to quantitative Western blot analysis. *Analytical Biochemistry*, 593, 113608. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2020.113608>
5. Taylor, S. C., & Posch, A. (2014). The design of a quantitative western blot experiment. *BioMed Research International*, 2014, 361590. <https://doi.org/10.1155/2014/361590>
6. Towbin, H., Staehelin, T., & Gordon, J. (1979). Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76(9), 4350–4354. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.9.4350>

Artículos científicos ordenados por orden cronológico

1. Liu, B., Tang, H., Liu, Q., Wang, W., Li, H., Zheng, S., Sun, F., & Zhao, X. (2023). Core-shell SERS nanotags-based western blot. *Talanta*, 253, 123888. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123888>
2. Cañada-García, D., & Arévalo, J. C. (2023). A simple, reproducible procedure for chemiluminescent Western blot quantification. *Bio-Protocol*, 13(9), e4667. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.4667>
3. Eaton, S. L., Hurtado, M. L., Oldknow, K. J., Graham, L. C., Marchant, T. W., Gillingwater, T. H., Farquharson, C., & Wishart, T. M. (2014). A guide to modern quantitative fluorescent Western blotting with troubleshooting strategies. *Journal of Visualized Experiments*, 93, e52099. <https://doi.org/10.3791/52099>
4. Eslami, A., & Lujan, J. (2010). Western blotting: Sample preparation to detection. *Journal of Visualized Experiments*, 44, e2359. <https://doi.org/10.3791/2359>