

**1. Nombre del Curso:**

**BIOTECNOLOGÍA ENZIMÁTICA**

**2. Objetivo del curso:**

Brindar a los estudiantes una visión actualizada de la bioprospección, identificación, producción, purificación, caracterización de enzimas, mejoramiento de las propiedades enzimáticas y sus aplicaciones como biocatalizadores en procesos de interés tecnológico. Se profundizará en algunos aspectos del uso de las enzimas en procesos industriales.

**3. Período y frecuencia de dictado**

Curso teórico práctico bienal para dictarse en semestre par.

**4. Lugar de realización**

Facultad de Ciencias

**5. Docentes responsables:**

Dr. Diego Vallés (PEDECIBA-Química/Bioquímica), Dra. Susana Castro (PEDECIBA-Química y Biología/Bioquímica), Dra Carolina Villadóniga (PEDECIBA-Biología), Dr. Juan Marizcurrena (PEDECIBA-Biología).

**6. Docentes participantes**

**Dra. Cecilia Giacomini** (Prof. Titular, Área Bioquímica, DEPPIO, Facultad de Química; PEDECIBA-Química); **Dr. Agustín Castilla** (Asistente Bioquímica, DEPPIO, Facultad de Química; PEDECIBA-Química); **Mag. Célida Cagide** (Startup Antarka); **Dr. Manuel Sanguinetti** (Asistente Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias; PEDECIBA-Biología); **Dra. Vanesa Amarelle** (Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, del Instituto Clemente Estable; PEDECIBA-Biología); **Dra. Paola Panizza** (Asistente Área Microbiología, DEPPIO, Facultad de Química; PEDECIBA-Química); **Dr. Flavio Pazos** (Investigador Adjunto Senior, UBPyA, Instituto Pasteur; PEDECIBA-Química); **Dra. Leticia Méndez** (UDEPI, CSIC); **Mag. Betania Martínez** y **Stefano Valdesolo** (Startup Antarka).

**7. Requerimientos previos de los estudiantes:**

Los estudiantes de opten por realizar este curso deberán tener los siguientes conceptos previos: Conocimientos básicos de la estructura y función de las macromoléculas (proteínas, ácidos nucleicos, polisacáridos, lípidos); conceptos de cinética enzimática, bioenergética y metabolismo (vías catabólicas y anabólicas), vías de la información génica (replicación, transcripción, traducción, y regulación); conceptos generales de estructura celular y membranas, procariontas y eucariontas. Nociones generales sobre los microorganismos.

**8. Cupo mínimo y máximo**

El curso tendrá un cupo mínimo para realizarse de 5 estudiantes y un cupo máximo de

16.

## 9. Modalidad y carga horaria

El curso consta de dos clases teóricas semanales virtuales sincrónicas y una semana y media de clases prácticas presenciales.

La carga horaria del curso es de 31,5 horas de teóricos (21 clases de 90 min cada una) y un módulo práctico de 28 horas (siete laboratorios de 4 h cada uno), de asistencia obligatoria.

Total créditos: 8

## 10. Descripción de contenido.

### Teóricos:

- Conceptos básicos de biotecnología. Los diferentes tipos de biotecnología. Evolución de la biotecnología. Introducción a la biotecnología enzimática.
- Generalidades sobre enzimas y sus aplicaciones biotecnológicas
- Glicosidasas. Características generales - definición, clasificación, mecanismos catalíticos, bases de datos. Aplicaciones biotecnológicas en procesos de hidrólisis y síntesis del enlace glicosídico.
- Celulasas. Características generales - definición, clasificación, mecanismos catalíticos, bases de datos. Aplicaciones biotecnológicas en el procesamiento de la pulpa de papel y en la producción de los biocombustibles.
- Lipasas. Características generales, definición, clasificación, mecanismos catalíticos, bases de datos. Aplicaciones biotecnológicas.
- Proteasas, características generales, definición, clasificación, mecanismos catalíticos, bases de datos. Aplicaciones biotecnológicas en procesos de hidrólisis y síntesis del enlace peptídico.
- Laccasas y peroxidasas. Características generales - definición, clasificación, mecanismos catalíticos, bases de datos. Sus múltiples aplicaciones biotecnológicas (industria papelera, textil, biosensores, etc.).
- Producción recombinante de proteínas en sistemas procariontes.
- Control del proceso de producción. Introducción al escalado.
- Producción recombinante de proteínas en sistemas eucariotes.
- Bioprospección basada en metagenómica funcional.
- Bioprospección de enzimas. Métodos basados en cultivo.
- Evolución dirigida de enzimas. Diseño racional como estrategia para el mejoramiento de enzimas.
- Inteligencia artificial aplicada al mejoramiento de enzimas. Inmovilización de enzimas.
- Inmovilización de enzimas. Métodos y aplicación industrial.
- Emprendedurismo.
- Transferencia tecnológica y propiedad intelectual.
- Estrategias de purificación de enzimas

### Práctico

El módulo de práctico constará de siete clases con una duración de 4 h cada una. El

módulo tratará sobre la producción recombinante, purificación y caracterización parcial de una hemoperoxidasa.

**Laboratorio 1.** Transformación de células de *E. coli* BL21 competentes con el vector de expresión pET28a(+) que contiene la secuencia codificante de la peroxidasa tipo DyP. Discusión sobre cepas de *E. coli* para expresión recombinante, diseño de vectores de expresión. Preparación de material para clases posteriores.

**Laboratorio 2.** Cultivo en medio líquido de los clones que incorporaron el vector de expresión. Muestreo a diferentes tiempos para determinar la turbidez a 600nm, peso seco y contenido de glucosa en el sobrenadante de cultivo. Estos parámetros nos permitirán evaluar el crecimiento del cultivo, y verificar la expresión de proteína producida a diferentes intervalos de tiempo.

**Laboratorio 3.** Visualización del perfil de expresión de la proteína, a diferentes tiempos, mediante SDS-PAGE. Procesamiento de datos del consumo de glucosa y curva de crecimiento basada en las medidas de turbidez y peso seco. Cálculo del rendimiento del proceso.

**Laboratorio 4.** Lisis celular y fraccionamiento de las proteínas solubles e insolubles. Purificación de la enzima recombinante (conteniendo una etiqueta de poli histidinas) mediante cromatografía de afinidad por iones metálicos inmovilizados (IMAC) y, posterior desalado mediante gel filtración con una columna PD-10.

**Laboratorio 5.** Determinación de la actividad enzimática y la concentración de proteínas de la muestra original, la fracción soluble e insoluble y la proteína purificada. Control electroforético por SDS-PAGE y HPLC analítico.

**Laboratorio 6.** Procesamiento de los resultados y control de calidad.

**Laboratorio 7.** Presentación de los resultados y entrega de informe.

## 11. Régimen de Ganancia

### Evaluación:

- El curso tendrá evaluación continua, valorando la participación y compromiso en clase. La ganancia del curso se obtendrá mediante la asistencia al 75% de las clases teóricas y prácticas.
- Presentación de un informe grupal del módulo práctico y presentación oral del mismo.
- Prueba de evaluación escrita, individual.

Los estudiantes que logren como mínimo el 50% de las instancias de evaluación (informe escrito, presentación oral y evaluación individual) aprobarán el curso.

