

NOMBRE DEL CURSO: Biotecnología Enzimática

Curso para dictarse en el segundo semestre del año 2025

Inicio: 18 de agosto

Teóricos: lunes y miércoles de 18 a 19:30 (modalidad virtual sincrónico)

Práctico: lunes 10 a viernes 14 de noviembre, 19 y 24 de noviembre de 14 a 18 h
(presencial en Facultad de Ciencias)

Área del conocimiento dentro de la Biotecnología: Biocatálisis

Curso dirigido a estudiantes de grado con conocimientos en bioquímica, enzimología, microbiología y biología molecular, y estudiantes de posgrado en Biotecnología y PEDECIBA, así como a estudiantes de otras áreas afines.

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.

Carga horaria total

El curso tendrá un mínimo de 59,5 h de clase distribuidas: en 31,5 h de clases teóricas y 28 h de clases prácticas.

Equipo Docente

Responsables: **Dres. Carolina Villadóniga** (Asistente Laboratorio de Biocatalizadores y sus Aplicaciones, Facultad de Ciencias), **Diego Vallés** (Asistente Laboratorio de Biocatalizadores y sus Aplicaciones, Facultad de Ciencias), **Juan José Marizcurrena** (Asistente Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias) y **Susana Castro** (Prof. Agregada Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias).

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

Temario teórico:

- 1.** Conceptos básicos de biotecnología. Los diferentes tipos de biotecnología. Evolución de la biotecnología. Introducción a la biotecnología enzimática. **1 clase de 90 min**
- 2.** Generalidades sobre enzimas y sus aplicaciones biotecnológicas. **1 clase de 90 min.**
- 3.** Glicosidasas. Características generales - definición, clasificación, mecanismos catalíticos, bases de datos. Aplicaciones biotecnológicas en procesos de hidrólisis y síntesis del enlace glicosídico. **2 clases de 90 min cada una**
- 4.** 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. **1 clase de 90 min**
- 5.** Lipasas. Características generales, definición, clasificación, mecanismos catalíticos, bases de datos. Aplicaciones biotecnológicas. **2 clases de 90 min cada una**
- 6.** Proteasas, características generales, definición, clasificación, mecanismos catalíticos, bases de datos. Aplicaciones biotecnológicas en procesos de hidrólisis y síntesis del enlace peptídico. **2 clases de 90 min cada una**
- 7.** Laccasas y peroxidasas. Características generales - definición, clasificación, mecanismos catalíticos, bases de datos. Sus múltiples aplicaciones biotecnológicas (industria papelera, textil, biosensores, etc.). **1 clase de 90 min**
- 8.** Producción recombinante de proteínas en sistemas procariotas. **1 clase de 90 min**
- 9.** Control del proceso de producción. Introducción al escalado. **1 clase de 90 min**
- 10.** Producción recombinante de proteínas en sistemas eucariotas. **1 clase de 90 min**
- 11.** Bioprospección basada en metagenómica funcional. **1 clase de 90 min**
- 12.** Bioprospección de enzimas. Métodos basados en cultivo. **1 clase de 90 min**
- 13.** Evolución dirigida de enzimas. Diseño racional como estrategia para el mejoramiento de enzimas. **1 clase de 90 min**
- 14.** Inteligencia artificial aplicada al mejoramiento de enzimas. Inmovilización de enzimas. **1 clase de 90 min**
- 15.** Inmovilización de enzimas. Métodos y aplicación industrial. **1 clase de 90 min**
- 16.** Emprendedurismo. **1 clase de 90 min**
- 17.** Transferencia tecnológica y propiedad intelectual. **1 clase de 90 min**
- 18.** Estrategias de purificación de enzimas. **1 clase de 90 min**

Temario 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.

Modalidad de cursada:

El curso se dictará en el segundo semestre del año 2025. Constará de dos clases semanales.

El curso consta 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.

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.

Relación			
Escala anterior	Escala actual (feb y mar 2025)		
	% <= logro	logro < %	Concepto
0	0	25	Muy insuficiente
1-2	25	50	Insuficiente
3-4	50	62,5	Aceptable
5-7	62,5	75	Bueno
8-9	75	87,5	Muy bueno
10-12	87,5	100	Excelente

Cronograma:

BIOTECNOLOGÍA ENZIMÁTICA 2025		
	FECHA	TEÓRICOS VIRTUALES (LUNES Y MIÉRCOLES DE 18 a 19:30)
AGOSTO	L 18	Conceptos básicos de biotecnología. Los diferentes tipos de biotecnología. Evolución de la biotecnología. Introducción a la biotecnología enzimática. <i>Susana Castro-Sowinski</i>
	Mi 20	Generalidades sobre enzimas y sus aplicaciones biotecnológicas. <i>Carolina Villadóniga</i>
	L 25	FERIADO
	Mi 27	Glicosidasas. Características generales - definición, clasificación, mecanismos catalíticos, bases de datos. <i>Cecilia Giacomini</i>
SEPTIEMBRE	L 1	Glicosidasas. Aplicaciones biotecnológicas en procesos de hidrólisis y síntesis del enlace glicosídico. <i>Cecilia Giacomini</i>
	Mi 3	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. <i>Susana Castro-Sowinski</i>
	L 8	Lipasas. Características generales. <i>Agustín Castilla</i>
	Mi 10	Lipasas. Características aplicaciones biotecnológicas. <i>Agustín Castilla</i>
	L 15	Proteasas, características generales - definición, clasificación, mecanismos catalíticos, bases de datos. <i>Diego Vallés</i>
	Mi 17	Proteasas. Aplicaciones biotecnológicas en procesos de hidrólisis y síntesis del enlace peptídico. <i>Diego Vallés-Carolina Villadóniga</i>
	L 22	FERIADO
	Mi 24	Peroxidasas. Características generales - definición, clasificación, mecanismos catalíticos, bases de datos. Sus múltiples aplicaciones biotecnológicas (industria papelera, textil, biosensores, etc.). <i>Célica Cagide</i>
	L 29	Producción recombinante de proteínas en sistemas procariotas : <i>E. coli</i> . <i>Juan J Marizcurrena</i>
OCTUBRE	Mi 1	Control del proceso de producción. Introducción al escalado. <i>Juan J Marizcurrena</i>
	L 6	Producción recombinante de proteínas en sistemas eucariotas : <i>Aspergillus</i> . <i>Manuel Sanguinetti</i>
	Mi 8	Bioprospección de enzimas. Métodos basados en metagenómica funcional. <i>Vanessa Amarelle</i>
	L 13	Bioprospección de enzimas. Métodos basados en cultivo. <i>Susana Castro-Sowinski</i>
	Mi 15	Evolución dirigida de enzimas y diseño racional como estrategia para el mejoramiento de enzimas. <i>Paola Panizza</i>
	L 20	Libre
	Mi 22	Inteligencia artificial aplicada al mejoramiento de enzimas. <i>Flavio Pazos</i>
	L 27	Inmovilización de enzimas. <i>Agustín Castilla</i>
	Mi 29	Transferencia tecnológica y propiedad Intelectual. <i>Leticia Méndez</i>
NOVIEMBRE	L 3	Emprendedurismo. <i>Stefano Valdesolo y Betania Martinez</i>
	Mi 5	Estrategias de purificación de enzimas. <i>Juan J Marizcurrena</i>
	FECHA	PRÁCTICO-LABORATORIO (FCien 14:00 a 18:00)
	L 10	Transformación de células de <i>E. coli</i> BL21 competentes con el vector de expresión pET28a(+) que contiene la secuencia codificante de la enzima DyP. Discusión sobre cepas de <i>E. coli</i> para expresión recombinante, diseño de vectores de expresión. Preparación de material para clases posteriores.
	Ma 11	Cultivo en medio líquido de los clones que incorporaron el vector de expresión. Muestreo a diferentes tiempos para determinar la densidad óptica (D.O.), peso seco y glucosa en sobrenadante. Estos parámetros nos permitirán evaluar el crecimiento del cultivo, y verificar la expresión de proteína producida a diferentes intervalos de tiempo.
	Mi 12	Visualización del perfil de expresión de la proteína producida a diferentes tiempos mediante SDS- PAGE. Procesamiento de datos del consumo de glucosa y curva de crecimiento basada en D.O. y peso seco. Cálculo del rendimiento del proceso.
	J 13	Lisis celular y fraccionamiento soluble e insoluble. Purificación de la enzima (con etiqueta de poli histidinas) mediante cromatografía de afinidad por iones metálicos inmovilizados (IMAC) y posterior desalado mediante gel filtración con una columna PD-10.
	V 14	Determinación de la actividad enzimática y concentración de proteínas de la muestra purificada, fracción soluble e insoluble. Control electroforético por SDS-PAGE y HPLC analítico .
	Mi 19	Procesamiento de los resultados y control de calidad.
	L 24	Presentación de resultados y entrega del informe.