



PLAN 2011

BIOTECNOLOGÍA II (PROCESOS Y PRODUCTOS)

CARRERA: LICENCIATURA EN BIOTECNOLOGÍA

I. IDENTIFICACIÓN

- | | | |
|------|--------------------------|-----------------------------------|
| 1. | Código | : 39B |
| 2. | Horas Semanales de Clase | : 6 |
| 2.1. | Teóricas | : 3 |
| 2.2. | Prácticas | : 3 |
| 3. | Créditos | : 4 |
| 4. | Pre-Requisito | : Biotecnología I (Biorreactores) |

II. JUSTIFICACIÓN

El curso teórico-práctico permitirá al estudiante conocer y conjugar los últimos avances técnicos que esta especialidad presenta desde el punto de vista científico y comprender a la biotecnología desde un enfoque multidisciplinario que involucra a ciencias como: biología, bioquímica, microbiología, genética e ingeniería genética, aplicadas a las áreas de la biotecnología médica, alimentaria, farmacéutica y ambiental.

La base de cualquier proceso biotecnológico (bioproceso) es el uso de enzimas o células enteras, principalmente microorganismos. El incremento de la eficiencia de la reacción permite reemplazar los procesos convencionales establecidos por otros más limpios y rentables. Por otro lado, la naturaleza altamente específica de las enzimas significa que los productos químicos pueden producirse en una forma más pura, y que los procesos biológicos no sólo requieren menores aportaciones de productos químicos, sino que también producen flujos de residuos menores y más manejables.

Como un primer paso, para incrementar el uso industrial de las ciencias biológicas, se necesita una agenda estratégica que cubra ambas, es decir, la ciencia básica y aplicada. La ciencia básica es esencial para el desarrollo de los conocimientos fundamentales, y la ciencia aplicada, para usar este conocimiento con el fin de introducir productos y procesos innovadores.

En el área de Bioprocesos y Bioproductos, como es difícil reemplazar productos existentes a causa de los altos precios del bioproducto, se deben innovar procesos más eficientes, o se deben desarrollar o identificar nuevas propiedades para el bioproducto.

Esta asignatura comprende los conocimientos que permiten el manejo de la fisiología de microorganismos, el cultivo de células y sus derivados para el diseño y manejo de procesos de producción. Además de los aspectos puramente productivos, la orientación contempla el estudio de la problemática de la separación y purificación de los bioproductos obtenidos.

La preparación de alumnos en esta orientación asegura la disponibilidad de recursos humanos capacitados para implementar en escala industrial la utilización de todo tipo de material biológico (microorganismos, células animales, células vegetales, etc.) con



fines productivos (obtención de biofármacos, vacunas, depuración ambiental, etc).

III. OBJETIVOS

- Comprender los conceptos básicos de la biotecnología y los fundamentos que la sustentan, así como el uso de organismos y procesos biológicos en los diferentes procesos industriales.
- Explicar con fundamento los diferentes procesos y técnicas que forman parte de un proceso biotecnológico.
- Desarrollar conceptos básicos acerca de los procesos biotecnológicos involucrados en la producción de enzimas, antibióticos, vacunas y usos en procesos de biorremediación y métodos de diagnóstico de enfermedades.
- Profundizar en las aplicaciones de la biotecnología en la sostenibilidad de los sistemas de producción y en la biorremediación del medio ambiente.

IV. CONTENIDOS

A. UNIDADES PROGRAMÁTICAS

1. Sistemas de expresión recombinante.
2. Selección de sistemas de expresión de producto y formulación de medio apropiado para bioprocesos.
3. Sistemas de ruptura celular y liberación de productos.
4. Métodos y mecanismos para separación de biomoléculas.
5. Selección de procesos y parámetros requeridos de pureza y concentración.
6. Técnicas de escalado y evaluación de rendimientos.
7. Aspectos económicos de bioprocesos.

B. DESARROLLO DE LAS UNIDADES PROGRAMÁTICAS

1. **Sistemas de expresión recombinante**
 - 1.1. *E. coli*.
 - 1.2. Levaduras.
 - 1.3. Baculovirus.
 - 1.4. Células de insecto.
 - 1.5. Sistemas de células de mamíferos.
 - 1.6. Clonado.
 - 1.7. Vectores o plásmidos de clonación.
 - 1.8. Vectores o plásmidos de expresión.
 - 1.9. Proteínas recombinantes. Producción.
 - 1.10. Utilización de proteínas recombinantes en el diagnóstico de enfermedades.
 - 1.11. Proceso biotecnológico de producción de enzimas. Utilidad.
 - 1.12. Proceso de producción de antibióticos y vacunas. Usos.
2. **Selección de sistemas de expresión de producto y formulación de medio apropiado para bioprocesos**
 - 2.1. Selección de cepa productora.

- 2.2. Niveles de producción.
- 2.3. Modificaciones para facilitar la purificación.
- 2.4. Cultivo bacteriano.
- 2.5. Medios de cultivo.
- 3. Sistemas de ruptura celular y liberación de productos**
 - 3.1. Productos de la ruptura celular: productos intracelulares, proteínas eucarióticas recombinantes, proteínas del espacio periplásmico.
 - 3.2. Métodos de ruptura celular y recuperación de productos intracelulares.
 - 3.3. Métodos mecánicos: Permeabilización, homogeinizadores, ultrasonido.
 - 3.4. Métodos químicos: Choque osmótico, digestión enzimática, tratamiento alcalino.
 - 3.5. Métodos de medida de la ruptura producida. Electroforesis.
- 4. Métodos y mecanismos para separación de biomoléculas**
 - 4.1. Métodos de separación por difusión.
 - 4.2. Destilación.
 - 4.3. Absorción de gases.
 - 4.4. Extracción líquido-líquido.
 - 4.5. Extracción de sólidos.
 - 4.6. Cristalización.
 - 4.7. Métodos de separación mecánicos:
 - 4.7.1. Tamizado.
 - 4.7.2. Filtración.
 - 4.7.3. Cromatografías: de afinidad, de intercambio iónico, de exclusión molecular.
- 5. Selección de procesos y parámetros requeridos de pureza y concentración**
 - 5.1. Determinación de la concentración de proteínas.
 - 5.1.1. Parámetros del proceso de purificación: el rendimiento y el grado de pureza.
 - 5.1.2. Cuantificación de proteínas por medición de absorbancia a 280 nm, método colorimétrico de Bradford, método colorimétrico de Lowry.
 - 5.2. Monitoreo del proceso de purificación.
 - 5.2.1. Separación de las proteínas en gel de poliacrilamida-SDS.
 - 5.3. Actividad enzimática.
 - 5.3.1. Curvas temporales de actividad enzimática.
 - 5.3.2. Especificidad y características cinéticas de la enzima.
 - 5.3.2.1. Ensayos enzimáticos. Especies requeridas (sustrato, coenzimas, cofactores); estequiometría de la reacción completa; efectos del pH, temperatura y fuerza iónica sobre la actividad de la enzima.
 - 5.4. Ensayo para medir la actividad biológica de proteínas no enzimáticas.
 - 5.5. Efecto de inhibidores en la actividad enzimática.



6. Técnicas de escalado y evaluación de rendimientos

- 6.1. Experimentación y demostración a menor escala.
- 6.2. Ensayos a escala de laboratorio. Obtención, caracterización y selección de microorganismos de interés.
- 6.3. Estudio de la funcionalidad de interés.
- 6.4. Establecimiento de condiciones de cultivo y mantenimiento.
- 6.5. Conservación de microorganismos. Criopreservación.
- 6.6. Selección de condiciones de diseño para la obtención de rendimiento y calidad.

7. Aspectos económicos de bioprocesos

- 7.1. Potencial económico del producto.
 - 7.1.1. Especificaciones del producto.
 - 7.1.2. Mercado.
- 7.2. Costos.
 - 7.2.1. Costos de fijos de producción.
 - 7.2.2. Gastos administrativos (Impuestos).
 - 7.2.3. Gastos de planta.
 - 7.2.4. Investigación y desarrollo.
 - 7.2.5. Patentes.

C. OBJETIVOS PEDAGÓGICOS POR UNIDAD

Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 1 "Sistemas de expresión recombinante", el estudiante será capaz de:

- Conocer los diversos sistemas de expresión recombinante comúnmente empleados para la obtención de moléculas de distintos orígenes, en organismos fácilmente cultivables; y las ventajas y desventajas de cada uno.
- Describir el proceso de clonación de una secuencia de interés en un plásmido de clonación, su expresión y amplificación a través de cultivos bacterianos.
- Conocer los conceptos acerca de los procesos biotecnológicos involucrados en la producción de enzimas, antibióticos, vacunas y sus usos en procesos de biorremediación y métodos de diagnóstico de enfermedades.

Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 2 "Selección de sistemas de expresión de producto y formulación de medio apropiado para bioprocesos", el estudiante será capaz de:

- Conocer y seleccionar cepas adecuadas para la amplificación y producción a escala de laboratorio de una molécula de interés y extrapolar el rendimiento a gran escala.
- Realizar modificaciones que faciliten la purificación posterior.
- Identificar los medios de cultivo adecuados.
- Aprender sobre los cultivos bacterianos más empleados.

Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 3 "Sistemas de ruptura celular y liberación de productos", el estudiante será capaz de:

- Conocer los diversos sistemas de ruptura celular existentes y apropiados según el producto de interés a obtener.
- Identificar los productos intracelulares, proteínas eucarióticas recombinantes y proteínas del espacio periplásmico.
- Aprender los fundamentos de los métodos de recuperación de productos intracelulares; métodos mecánicos y métodos químicos.
- Aprender los métodos de medida de la ruptura celular o lisis producida.

Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 4 "Métodos y mecanismos para separación de biomoléculas", el estudiante será capaz de

- Adquirir los conocimientos para el diseño, la selección y la operación de procesos de recuperación y purificación de productos de origen biológico.
- Aprender los fundamentos de los diversos métodos de separación de biomoléculas.
- Distinguir cada uno de los métodos más importantes y su utilidad de acuerdo a la biomolécula de interés.
- Conocer el método de difusión y su aplicación.
- Conocer y aplicar el método de destilación para la obtención de productos de interés industrial.
- Conocer los métodos de absorción de gases y extracción líquido-líquido y su aplicación.
- Aplicar los métodos de extracción de sólidos como la cristalización.
- Aplicar los métodos de separación mecánicos como el tamizado y la filtración y centrifugación.
- Conocer los métodos cromatográficos de separación de moléculas.

Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 5 "Selección de procesos y parámetros requeridos de pureza y concentración", el estudiante será capaz de:

- Adquirir destrezas en el monitoreo del proceso de purificación.
- Identificar la pureza y rendimiento de las proteínas obtenidas.
- Determinar la concentración de proteínas y poder tomar la decisión de qué método tomar según las ventajas y desventajas de las técnicas aprendidas.
- Minimizar la manipulación de la muestra para evitar perder la actividad biológica de la proteína y/o reducir el rendimiento.
- Comprender los riesgos que existen en cada paso de la obtención de una proteína purificada, como por ejemplo: la pérdida de la actividad de la enzima y aumento en los costos de la purificación.

Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 6 "Técnicas de escalado y evaluación de rendimientos." el estudiante será capaz de:



- Comprender los procesos de obtención, caracterización y mantenimiento de microorganismos.
- Conocer cuáles son las funcionalidades de interés de los microorganismos: Probióticos, estimuladores del sistema inmunitario, capacidad antimicrobiana, asimilación del colesterol, actividad lipasa, producción de biopolímeros, obtención de biodiesel, producción de estructuras calcáreas.
- Determinar las condiciones de trabajo a escala industrial.
- Establecer las condiciones de cultivo y mantenimiento para crecimiento y funcionalidad de las cepas microbianas.

Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 7 "Aspectos económicos de bioprocesos" el estudiante será capaz de:

- Conocer el mercado para un producto nuevo, el costo de producción del mismo, el o los impuestos agregados para su comercialización.
- Conocer los procesos para la obtención de patentes de productos nuevos.

V. METODOLOGÍA

La metodología formativa incluirá:

- Clases magistrales en las que el profesor planteará los fundamentos teóricos de la asignatura y resolverá las dudas y cuestiones planteadas por el alumno. También para el mismo efecto se prevé la presentación y discusión de artículos científicos relacionados con cada unidad del programa.
- Prácticas en el laboratorio.
- Visitas guiadas a plantas industriales que se encuentren realizando procesos biotecnológicos aprendidos en la clase.

VI. MEDIOS AUXILIARES

- Pizarra, marcadores y borrador.
- Textos básicos y de consulta.
- Publicaciones científicas.
- Cañón multimedia.
- Herramientas computacionales.

VII. ESTRATEGIAS DE ENSEÑANZA – APRENDIZAJE

Se utilizarán estrategias didácticas consistentes en clases expositivas, clases magistrales, con el objeto de que el estudiante comprenda los conceptos sobre los procesos de obtención de productos; así como también, a través de clases prácticas, tenga la capacidad de realizar ensayos en los cuales deberá demostrar destrezas en el manejo de microorganismos, y moléculas.

Por otro lado, en la cátedra se introduce al alumno al mundo de la producción biotecnológica industrial, lo cual requiere además que estén a la vanguardia de lo que se está realizando en el sector productivo a nivel nacional, regional y mundial, por tanto se



propone realizar de forma activa visitas técnicas a laboratorios de referencias, industria; además la discusión de artículos científicos de actualidad como componente fundamental.

VIII. EVALUACIÓN

Se evaluarán tanto los conocimientos teóricos adquiridos como la capacidad de relación entre los conocimientos teóricos y prácticos, además de la exposición de trabajos y seminarios individuales y/o colectivos y la capacidad para asimilar los conocimientos expuestos por estas vías.

La calificación procesual, las evaluaciones parciales y finales se realizarán de acuerdo al reglamento académico vigente de la FACEN.

IX. BIBLIOGRAFÍA

A. BÁSICA

- DORAN, P. M. 1998. Principios de Ingeniería de los Bioprocesos. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A., 466p.
- JAGNOW, G., DAAWIND, J. 1991. Biotecnología: Introducción con Experimentos Modelo. Ed. ACRIBIA, S.A. España. 251 p.
- SMITH, J.E. 2009. *Biotechnology* 5th ed., United Kingdom: Cambridge University Press, 276p.

B. COMPLEMENTARIA

- CRUEGER, W., CRUEGER, A. 1993. Biotecnología: Manual de Microbiología Industrial. Zaragoza: Editorial Acribia. 413p.
- DORAN, P. 2012. *Bioprocess Engineering Principles* 2nd ed., Melbourne: Academic Press, 525p.
- GLICK, B.R., PASTERNAK, J.J. & PATTEN, C.L. 2009. *Molecular biotechnology: principles and applications of recombinant DNA* 4th ed., Washington, DC: ASM Press, 850p.
- IZQUIERDO ROJO, M. 1999. *Ingeniería genética y transferencia génica*, Madrid: Pirámide, 335p.