Ministerio de Cultura y Educación
Universidad Nacional de San Luis
Facultad de Química Bioquímica y Farmacia
Departamento: Bioquimica y Cs Biologicas
Area: Microbiologia

(Programa del año 2013)
(Programa en trámite de aprobación)
(Presentado el 27/06/2013 13:16:54)

I - Oferta Académica

Materia	Carrera	Plan	Año	Período
BIOTECNOLOGIA	LIC. EN BIOLOGIA MOLECULAR	11/06	2013	2° cuatrimestre

II - Equipo Docente

Docente	Función	Cargo	Dedicación
SILVA, HUMBERTO DE JESUS	Prof. Responsable	P.Tit. Exc	40 Hs
SILVA, PATRICIA GISELA	Prof. Colaborador	JTP Exc	40 Hs
FERRARIS, MARIA DEL PILAR	Auxiliar de Práctico	A.1ra Exc	40 Hs

III - Características del Curso

Credito Horario Semanal				
Teórico/Práctico	**Teóricas**	**Prácticas de Aula**	**Práct. de lab/ camp/ Resid/ PIP, etc.**	**Total**
0 Hs	5 Hs	2 Hs	1 Hs	8 Hs

Tipificación	Periodo
B - Teoria con prácticas de aula y laboratorio	2º Cuatrimestre

Duración			
Desde	**Hasta**	**Cantidad de Semanas**	**Cantidad de Horas**
08/08/2013	15/11/2013	15	120

IV - Fundamentación

La biotecnología implica la utilización de organismos vivos, sistemas y/ o procesos biológicos para la producción de bienes y servicios, constituyendo una disciplina multidisciplinaria donde convergen microbiología, bioquímica, biología molecular y tecnología. Esta característica multidisciplinaria de la biotecnología es el resultado de las interrelaciones existentes de una gran variedad de fenómenos que ocurren naturalmente en los sistemas biológicos y que deben ser entendidos, controlados y optimizados hacia la producción, aspecto esencial de esta área de la tecnología.

V - Objetivos / Resultados de Aprendizaje

Los objetivos fundamentales del curso propenden a una formación básica del alumno en el análisis de bioprocesos. Esto implica adquirir conocimientos en el aislamiento, conservación y mejoramiento de cepas de uso industrial utilizando diversas técnicas microbiológicas y genéticas. Asimismo, es importante adquirir el conocimiento de los principios del diseño racional de la ingeniería y tecnología aplicados a los sistemas biológicos, de tal manera que las mejoras genéticas puedan ser expresadas y escaladas a nivel industrial particularmente en bioreactores con el grado de control de variables existentes en los procesos fermentativos.

VI - Contenidos

PROGRAMA ANALITICO Y/O DE EXAMEN:

I.- ASPECTOS GENERALES DE BIOTECNOLOGIA

Tema 1

Biotecnología. Definición. Biotecnología microbiana. Procesos fermentativos. Fermentador. Tipos de procesos fermentativos. Células microbianas. Metabolitos primarios y secundarios. Características de los metabolitos secundarios. Biotransformaciones. Cronología del desarrollo de la industria fermentativa.. Biotecnología moderna. Componentes básicos de un proceso fermentativo. Bio-reactores. Tratamiento de efluentes. Aumento de eficiencia total. Escalas de producción.

II.- AISLAMIENTO Y CONSERVACIÓN DE CEPAS DE USO INDUSTRIAL

Tema 2.

Aislamiento de cepas de uso industrial. Criterios básicos. Métodos de aislamiento con y sin presión de selección. Métodos de aislamiento con presión de selección. Medios líquidos: sistemas batch y continuo. "Wash out". Prevención del "wash out". Usos del quimiostato en aislamiento. Producción de biomasa. Crecimiento simbiótico y sintrófico. Metanógenos. Producción autotrófica y heterotrófica de metano. Aislamiento de mutantes de ganancia metabólica. Evolución dirigida. Biodesulfurización.

Tema 3.

Métodos de aislamiento sin presión de selección. Desarrollo del medio de óptima producción. Aislamiento de microorganismos productores de metabolitos primarios y secundarios. Uso de técnicas de biología molecular para el aislamiento de microorganismos productores de enzimas (Genómica). Metanomonooxigenasas. Metagenómica. Definición. Características. Tipos. Análisis metagenómico. Construcción y evaluación de librerías genómicas ambientales. Vectores de clonación. BAC, Cósmidos, Fósmidos. Metagenómica filogenética y funcional. Conservación de los microorganismos de importancia industrial. Técnicas de conservación. Control de calidad de cultivos conservados.

III.- MEJORAMIENTO DE CEPAS DE USO INDUSTRIAL PARA LA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS PRIMARIOS

Tema 4.1

Mejoramiento de microorganismos industriales. Optimización nutricional. Diseño factorial. Modificación genética del genoma. Variantes naturales. Mutantes inducidas. Mutaciones con selección. Incremento de productividad. Selección de mutantes inducidas con niveles incrementados de metabolitos primarios. Mecanismos de control de síntesis de metabolitos primarios. Represión e inhibición "Feed Back". Postulación de mutantes con alteración en los mecanismos de control.

Tema 4.2

Mutaciones propuestas. Modificación de la permeabilidad. Aislamiento de mutantes que no producen inhibidores o represores: recuperación de mutantes auxotróficas, evaluación de productividad. Uso de auxótrofos en la producción de metabolitos primarios. Estudios fisiológicos en quimiostato. Aislamiento de mutantes que no reconocen inhibidores o represores: mutantes resistentes a análogos, condiciones de superproducción. Técnica de la placa gradiente, ejemplos. Aislamiento de mutantes revertantes. Ejemplos. Uso de técnicas de selección combinadas. Biosíntesis familia del ácido aspártico, técnicas moleculares. Análisis de flujos metabólicos.

IV.- MEJORAMIENTO DE CEPAS DE USO INDUSTRIAL PARA LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS Y METABOLITOS SECUNDARIOS.

Tema 5.1

Selección de mutantes inducidas que sintetizan niveles mejorados de enzimas industriales.Enzimas biosintéticas y catabólicas. Métodos de control de enzimas catabólicas. Aumento de productividad de enzimas catabólicas. Mecanismos de control. Represión, inducción y represión catabólica. Aislamiento de mutantes catabólicas en ausencia de inductores, mutantes constitutivas: técnicas de aislamiento. Aislamiento de mutantes catabólicas en presencia de represores: mutantes

resistentes a represión feed-back y catabólica.

Tema 5.2
Aislamiento de mutantes inducidas que producen rendimientos incrementados de metabolitos secundarios. Mejoramiento de la productividad en la producción de antibióticos. Sistematización de la búsqueda al azar. Sistemas miniaturizados, aplicación a la producción de penicilina. Selección dirigida de metabolitos secundarios. Aislamiento de mutantes auxotróficas. Aislamiento de mutantes resistentes. Tipos posibles: análogos de metabolitos primarios precursores de secundarios, efectos feed-back de metabolitos secundarios, efectos tóxicos de metabolito secundario en la tropofase, presencia de precursores tóxicos en la tropofase. Aislamiento de mutantes revertantes desde : auxótrofos de metabolitos primarios y de mutantes no productoras de metabolitos secundarios.

V.- BIOENERGETICA Y ESTEQUIOMETRIA METABOLICA

Tema 6.1
Principios de termodinámica. La reacción metabólica. Productos finales del metabolismo. Estequiometría del crecimiento celular y de la formación de productos. Balances de materia: balances elementales, balance de electrones. Rendimiento teórico máximo. Estequiometría de la energía metabólica. Termodinámica del crecimiento celular. Calores de reacción en cultivos aeróbicos y anaeróbicos. Balances de energía en bioprocesos. Estimación de coeficientes de rendimiento. Formulación de medios de cultivo.

VI.- CINETICA Y METODOS DE CULTIVO

Tema 7.1
Cinética del crecimiento celular. Determinación de la biomasa. Crecimiento en cultivo discontinuo. Crecimiento equilibrado. Efecto de la concentración de sustrato: ecuación de Monod. Efecto de las condiciones de cultivo en la cinética celular. Modelos cinéticos de utilización de sustrato, formación de producto y producción de biomasa en cultivos celulares.

Tema 7.2
Demanda y suministro. Cultivo batch alimentado. Cultivo continuo: quimiostato. Cultivo semicontinuo. Determinación de los parámetros cinéticos. Determinación de rendimientos y coeficientes de mantenimiento en quimiostato. Cinética de muerte celular.

VII.- ANALISIS Y DISEÑO DE REACTORES BIOLOGICOS

Tema 8.1
Procesos físicos. Fenómenos de transporte en bioprocesos: transferencia de cantidad de movimiento, calor y masa. Aireación y agitación. Eficiencia de la transferencia de oxígeno-KLa.

Tema 8.2
Reactores homogéneos y heterogéneos. Principios de diseño. Tecnología de las fermentaciones. Tecnología de reactores de células animales y de plantas. Monitoreo y control. Esterilización de bioreactores.

VIII.- RECUPERACION DE PRODUCTOS

Tema 9.1
Operaciones de separación y purificación. Operaciones primarias: ruptura celular, extracción, filtración, floculación, centrifugación. Técnicas de alta resolución. Tecnología de membranas: transporte y mecanismos, micro y ultrafiltración de flujo tangencial, osmosis inversa. Electrodiálisis, diseño de módulos y procesos. Cromatografía: métodos cromatográficos y tipos de separaciones, materiales. Cromatografía líquida de alta performance (HPLC).

VII - Plan de Trabajos Prácticos

PROGRAMA DE TRABAJOS PRACTICOS:

TRABAJOS PRACTICOS DE AULA

Resolución de Problemas:
La resolución de problemas orientados al análisis y diseño de bioprocesos planificados en el curso, en los cuales se relacionan conceptos y metodologías provenientes de las ciencias biológicas y de la tecnología, favorece la integración de los conocimientos impartidos al alumno de manera explicativa y analítica.
Los temas incluidos en los problemas son previamente desarrollados en clases teóricas, pero en este caso aplicados al análisis cuantitativo de procesos y sistemas biológicos. Se propende a que el alumno sea capaz de manejar estrategias y realizar cálculos matemáticos, no demasiado complejos, que le ayudarán a comprender más acabadamente y aplicar los conceptos teóricos de la asignatura.
Se abordarán entre 30-40 problemas con un tiempo estimado de trabajo de 20 horas

TRABAJOS PRÁCTICOS DE LABORATORIO

1-Análisis de cultivos discotinuos en condiciones aeróbicas de levaduras.

Objetivos:
Estudiar las cinéticas de crecimiento de Saccharomyces cereviceae y Rhodotorula sp en cultivos en condiciones controladas de temperatura y agitación, evaluando los siguientes parámetros estequiométricos y cinéticos: biomasa final alcanzada, rendimiento celular, velocidad específica de crecimiento, velocidad especifica de consumo de sustrato, velocidad específica de formación de producto.

La ejecución del trabajo práctico incluye las siguientes etapas:

a) Preparación de medios de cultivo sólidos y líquidos. Esterilización, siembra/repique de cepas de Levaduras.
b) Cultivos de las levaduras a escala de laboratorio en agitador rotatorio.
c) Cuantificación de biomasa de las levaduras mediante estimaciones por Densidad Óptica y peso seco.

d) Evaluación diferencial de la producción de metabolitos primarios (etanol) en condiciones aeróbicas (Efecto Crabtree)
e) Consumo de la fuente carbonada. Efecto diáuxico.
f) Discusión de resultados.

2-Producción de metabolitos microbianos con actividad biológica.

Objetivos:
Detectar la actividad antimicrobiana de cultivos de Bacillus sp contra bacterias Gram-positivas, Gram- negativas, levaduras y hongos filamentosos mediante la técnica de difusión en placa y “well diffusion”.
Determinar la capacidad fungicida, fungistática o fungilítica de los metabolitos bioactivos secretados por Bacillus sp en cultivos discontinuos.

La ejecución del trabajo práctico incluye las siguientes etapas:

a) Repiques de los distintos microorganismos indicadores.
b) Obtención de sobrenadantes de cultivos de Bacillus sp libres de células y esporas (SLCE) mediante centrifugación y filtración.
c) Determinación de la actividad antimicrobiana mediante la técnica de difusión en placa y “well diffusion”
d) Evaluar el modo de acción del SLCE de Bacillus sp sobre S. cereviceae mediante cinéticas de muerte utilizando recuento de microorganismos totales y viables.
e) Discusión de resultados.

VIII - Regimen de Aprobación

Reglamento del Curso Régimen de aprobación
Para aprobar la asignatura el alumno deberá regularizar la misma mediante la aprobación de los trabajos prácticos y parciales tanto teóricos como prácticos de acuerdo con el siguiente reglamento.
1.- El alumno deberá realizar la totalidad de los trabajos prácticos, cuyo temario y fecha de realización se conocerá al comenzar el cuatrimestre.
2.- Antes de comenzar cada trabajo práctico el alumno deberá consultar la guía de trabajos prácticos de la asignatura y completar el estudio con las explicaciones, seminarios y/o teoría relacionados al tema.
3.- Los alumnos serán evaluados por los docentes para verificar sus conocimientos en forma oral u escrita, antes, durante o al finalizar el trabajo práctico.
4.- Los alumnos deberán aprobar el 100% de los trabajos prácticos. Para tener derecho a la recuperación de los mismos se deberá asistir y aprobar de primera instancia el 75% de los trabajos prácticos.
5.- Los alumnos deberán rendir dos exámenes parciales teóricos en fechas establecidas.
6.- La no asistencia a los trabajos prácticos y/o evaluaciones parciales se considerará como No aprobado.
7.- Los alumnos deberán aprobar el 100% de las evaluaciones parciales pudiendo completar un total de 3 recuperaciones. Los alumnos que trabajen y las madres con hijos menores tendrán derecho a una recuperación más de las establecidas.
En todos los casos el alumno deberá:
Tener un comportamiento en clases y trabajos prácticos acorde con su calidad de estudiante universitario.
Presentarse a los trabajos prácticos correctamente uniformado con delantal limpio y cabello corto o recogido, uñas cortas y limpias y calzado cerrado, no olvidarse que es un área donde se manipulan microorganismos.
Considerar la letra y la redacción en la ejecución de sus pruebas, cuidando que su calidad sea acorde a la de un estudiante universitario.

EXAMEN FINAL
El alumno deberá aprobar un examen final teórico en base al Programa Analítico y/o de Examen

IX - Bibliografía Básica

[1] Stanbury, P.F. y Whitaker, A. Principles of Fermentation Technology. Pergamon Press.
[2] Atkinson, B. y Mavituna, F. Biochemical engineering and biotechnology handbook, Stockton Press.
[3] Doran, P. Principios de ingenieria de los procesos.
[4] Pirt, S.J. Principles of microbe and cell cultivation.
[5] Aiba, S., Humphrey, A. y Millis, N. Biochemical engineering.

X - Bibliografia Complementaria

[1] Bailey J. y Ollis, D., Biochemical engineering fundamentals.
[2] Krumphanzl. V., Sikyta, B. Y Vanek, Z. Overproduction of Microbial Metabolites Academic Press. London.
[3] Sebek, O.K. y Laskin A.L. Genetic of Industrial Micro-organisms. American Society for Microbiology. Washington. .
[4] Stubble, H. Induced Mutation and their utilization. Academic Verlag, Berlín.
[5] Elander, R.P. y Espenshade, M.A. The role of microbial genetics in industrial microbiology. In Industrial Microbiology. (Ed. Miller, B.M. y Litsky, W.L.) McGraw Hill. New York.
[6] Yamada, K., Kinoshita, S., Tsunoda, T. Y Aida, K. The microbial production of amino-acids. Halstead Press, New York.
[7] ACS Simposium Series (271) Purification of fermentation products.
[8] Dechow, F. Separation and purification techniques in biotechnology

XI - Resumen de Objetivos

Adquirir conocimientos en el aislamiento, conservación, mejoramiento de cepas de uso industrial utilizando diversas técnicas microbiológicas-genéticas y de los principios del diseño racional de la ingeniería-tecnología aplicados a los sistemas biológicos.

XII - Resumen del Programa

I.- Aspectos generales de biotecnología.

II.- Aislamiento y conservación de cepas de uso industrial.

III.- Mejoramiento de cepas de uso industrial para la producción de metabolitos primarios.

IV.- Mejoramiento de cepas de uso industrial para la producción de enzimas y metabolitos secundarios.

V.- Bioenergética y estequiometria metabólica.

VI.- Cinética y métodos de cultivo.

VII.- Análisis y diseño de reactores biológicos.

VIII.- Recuperación de productos.

XIII - Imprevistos

XIV - Otros

ELEVACIÓN y APROBACIÓN DE ESTE PROGRAMA	
	Profesor Responsable
Firma:	
Aclaración:	
Fecha:	