



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA  
Y DISEÑO DEL ESTADO DE JALISCO, A.C.**



## **POSGRADOS**

### **I. DATOS GENERALES DE LA ASIGNATURA**

Programa Educativo		Modalidad		Duración del periodo lectivo		
Maestría y Doctorado en Ciencias en Innovación Biotecnológica		Escolarizada		Semestre		
Clave	Nombre de la Asignatura			Fecha de Elaboración	Fecha de Aprobación	Fecha de Revisión
BS35	Introducción a la biocatálisis			22/02/2021		02/09/2021
Distribución de horas formativas						
Horas de trabajo				Total de Créditos		8
Horas Teóricas	Horas Prácticas	Trabajo independiente	Asesoría	Asignatura precedente:	Bioquímica	
48	16	16	0			

### **II. ESTRUCTURA BÁSICA DEL PROGRAMA**

<b>OBJETIVO (S)</b>
El objetivo general del curso es que el o la estudiante adquiera conocimientos que le permitan comprender y estudiar las enzimas desde el punto de vista bioquímico, además de conocer el impacto, importancia y empleo de los biocatalizadores en el sector industrial. Al final del curso el alumno también tendrá capacidades tácticas que le permitan llevar a cabo ensayos a nivel laboratorio presencial y en línea, lo cual contribuirá a reforzar conceptos teóricos abordados en el programa.

## CONTENIDO TEMÁTICO

### UNIDAD 1. INTRODUCCION A LA BIOCATALISIS

- 1.1. Reacciones químicas
- 1.2. Catálisis
- 1.3. Biocatálisis
- 1.4. Panorama de aplicaciones de biocatalizadores en la industria

### UNIDAD 2. ESTRUCTURA DE LAS PROTEÍNAS Y SUS FUNCIONES.

- 2.1. Código genético (codones) y aminoácidos.
- 2.2. Clasificación y características de los aminoácidos.
- 2.3. Enlace peptídico.
- 2.4. Organización estructural de las proteínas.
- 2.5. Funciones de las proteínas.
- 2.6. Síntesis celular de enzimas (transcripción, traducción, modificaciones post-traduccionales).
- 2.7. Estructura proteica y su relación con la actividad enzimática.
- 2.8. Nomenclatura y clasificación de las enzimas.
- 2.9. Ejemplos de mecanismos de reacciones enzimáticas.
  - 2.9.1 Hidrolasas: Proteasas, carbohidrasas, esterasas y lipasas.

### UNIDAD 3. CINÉTICA ENZIMÁTICA.

- 3.1 Aspectos termodinámicos de las reacciones.
- 3.2 Tipos de reacciones.
- 3.3 Complejos activados.
- 3.4 Estados de transición.
- 3.5 Cinética enzimática en medios homogéneos (Michaelis-Menten).
- 3.6 Determinación de parámetros cinéticos en medios homogéneos (teoría y ejercicios).
- 3.7 Mecanismos de inhibición enzimática en medios homogéneos (teoría y ejercicios).
- 3.8 Cinética enzimática en medios heterogéneos.
- 3.9 Reacciones enzimáticas con múltiples sustratos.

### UNIDAD 4. CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS Y DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ENZIMÁTICA.

- 4.1 Métodos para cuantificación de proteínas (Bradford, Lowry, ELISA, etc., teoría y ejercicios).

4.2 Métodos para la detección de actividad enzimática:

4.2.1 Cromatografía

4.2.1.1 Cromatografía líquida

4.2.1.2 Cromatografía de gases

4.2.1.3 Cromatografía capa fina.

4.2.1.4 Cromatografía acoplada a detector de masas

4.2.2 Titulación.

4.2.3 Espectrofotometría.

4.2.4 Métodos de Cribado de Alto Rendimiento.

4.2.5 Cálculo de actividad enzimática y cuantificación de proteínas (Definición de unidades y ejercicios).

**UNIDAD 5. OBTENCIÓN DE ENZIMAS.**

5.1 Enzimas a partir de tejidos.

4.1.1 Vegetales.

4.1.2 Animales.

5.2 Enzimas a partir de microorganismos nativos.

4.2.1 Bacterias.

4.2.2 Levaduras.

4.2.3 Hongos.

4.2.4 Arqueas.

5.3 Enzimas recombinantes (aspectos generales).

5.3.1 Sistemas de expresión más empleados (*Escherichia coli*, *Pichia pastoris*, *Aspergillus*, células de insecto y mamífero, etc).

**UNIDAD 6. PURIFICACIÓN Y/O AISLAMIENTO DE ENZIMAS.**

6.1 Concentración de enzimas (Ultrafiltración, liofilización, precipitación).

6.2 Purificación de enzimas por técnicas cromatográficas.

5.2.1 Intercambio Iónico y catiónico.

5.2.2 Interacción hidrofóbica.

5.2.3 Exclusión molecular.

5.2.4 Afinidad.

6.3 Identificación de enzimas.

5.3.1 Electroforesis: SDS-PAGE en 1-D y 2-D.

5.3.2 Técnicas inmunológicas: Dotblot, Inmunoblot.

6.4 Descripción de los rendimientos en la purificación de enzimas (Tabla de purificación).

**UNIDAD 7. CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE ENZIMAS.**

7.1 Preferencia de sustrato.

7.2 Efecto de la temperatura.

- 7.3 Cálculo de energía de activación e inactivación.
- 7.4 Efecto del pH en la actividad enzimática.
- 7.5 Estabilidad de enzimas.
  - 6.5.1 Temperatura.
  - 6.5.2 pH.
  - 6.5.3 Solventes.
- 7.6 Efecto de cofactores (metales, coenzimas).
- 7.7 Inhibición de la actividad enzimática.
  - 6.7.1 Métodos de inhibición enzimática.
  - 6.7.2 Cálculo de la efectividad de inhibición ( $IC_{50}$ ).

#### **UNIDAD 8. MEJORAMIENTO DE ENZIMAS POR GENÉTICA MOLECULAR.**

- 8.1 Conceptos fundamentales de biología molecular.
- 8.2 Técnicas básicas de manipulación genética.
- 8.3 Microorganismos empleados en manipulación genética.
  - 7.3.1 *Escherichia coli* (cepas y plásmidos).
  - 7.3.2 *Pichia pastoris* (cepas y plásmidos).
  - 7.3.3 *Aspergillus* (cepas y plásmidos).
- 8.4 Evolución dirigida.
- 8.5 Mutagénesis dirigida.

#### **UNIDAD 9. MEJORAMIENTO DE ENZIMAS CON TÉCNICAS FISICOQUÍMICAS.**

- 9.1 Inmovilización de enzimas.
  - 9.2 No covalente.
  - 9.3 Covalente.
  - 9.4 Unipuntual.
  - 9.5 Multipuntual (CLECS, CLEAS).
  - 9.6 Otras modificaciones (PEGilación).
  - 9.7 Ventajas y desventajas de los diferentes sistemas.

#### **PRÁCTICAS DE LABORATORIO (TEÓRICO-PRÁCTICO).**

- Teoría sobre la selectividad.
- Teoría sobre la enantioselectividad.
- Practica: Cribado de enzimas comerciales para la resolución racémica de enantiómeros:
- Cuantificación de la actividad enzimática de cada enzima con 2 sustratos (e.g. p-nitrofenil ésteres).
- Cuantificación de la actividad enzimática de cada enzima con 2 enantiómeros (e.g. R(S)-glicidil butirato).
- Reporte de la práctica con formato de congreso.

### III. EVALUACIÓN Y ACREDITACIÓN

MÉTODOS DE EVALUACIÓN	Exámenes, tareas (análisis de artículos, ejercicios numéricos) y participación.
EVIDENCIAS DE APRENDIZAJE	Los alumnos entregaran por escrito tareas, exámenes y reporte de la práctica.
CRITERIOS DE ACREDITACIÓN	Escala de evaluación: 0-10 Mínimo aprobatorio: 8.0 Evaluación: - Exámenes/práctica 65% -Tareas y participación: 35% Mínimo 80% asistencia.

### IV. BIBLIOGRAFÍA Y RECURSOS INFORMÁTICOS

<b>BIBLIOGRAFÍA</b>
1) Aehle, W. Enzymes in industry production and applications [Online]. Weinheim; Chichester: Wiley-VCH ; John Wiley [distributor]. 2007. 2) Arndt, K. M. M. L. K. M. Protein engineering protocols, [Totowa (N.J.)], Humana press. 2007. 3) Copeland, R. A. Enzymes: A Practical Introduction to Structure, Mechanism, and Data Analysis., Wiley-VCH, Inc. 2000. 4) Frey, P. A. H. A. D. Enzymatic reaction mechanisms, Oxford [u.a., Oxford Univ. Press. 2007. 5) Nelson, D. L. and Cox, M.M. Lehninger principles of biochemistry, Seventh Edition, New York, WH Freeman and Company. 2017. 6) Reymond, J. M. Enzyme assays high-throughput screening, genetic selection, and fingerprinting [Online]. Weinheim, Germany: Wiley-VCH. 2006. 7) Artículos científicos
<b>OTROS RECURSOS</b>
Artículos científicos Tesis de maestría y doctorado
<b>PERFIL DEL FACILITADOR O FACILITADORA</b>
Grado mínimo maestría o equivalente en biotecnología, enzimología, biología. Demostrar experiencia en la materia corroborada por la impartición de cursos relacionados, publicaciones, capítulos de libro, entre otros.