



1821 Universidad de Buenos Aires

Resolución Consejo Directivo

Número:

Referencia: EX-2022-03237677- -UBA-DMESA#FCEN - POSTGRADO - Sesión
05/09/2022

VISTO:

La nota presentada por la Dirección del Departamento de Química Biológica, mediante la cual eleva la información del curso de posgrado Caracterización y Aplicaciones Industriales de Enzimas Degradadoras de Polisacáridos de Pared Vegetal para el año 2022,

CONSIDERANDO:

lo actuado por la Comisión de Doctorado,

lo actuado por la Comisión de Posgrado,

lo actuado por este Cuerpo en la sesión realizada el día 5 de septiembre de 2022,

en uso de las atribuciones que le confiere el Artículo 113° del Estatuto Universitario,

**EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

R E S U E L V E:

ARTÍCULO 1º: Aprobar el nuevo curso de posgrado Caracterización y Aplicaciones Industriales de Enzimas Degradadoras de Polisacáridos de Pared Vegetal de 48 horas de duración, que será dictado por la Dra. Eleonora Campos, Patricio Craig y Sonia Wirth con la colaboración de los Dres. Polikarpov, Vanessa Arnoldi Pellegrini y los Lic. Mercedes Garrido, Juliana Topalian, Sol Canale y Matías Iglesias.

ARTÍCULO 2º: Aprobar el programa del curso de posgrado Caracterización y Aplicaciones Industriales de Enzimas Degradadoras de Polisacáridos de Pared Vegetal que como anexo forma parte de la presente Resolución, para su dictado en el segundo cuatrimestre de 2022.

ARTÍCULO 3º: Aprobar un puntaje máximo de tres (3) puntos para la Carrera del Doctorado.

ARTÍCULO 4º: Establecer un arancel de CATEGORÍA 3 estableciendo que dicho arancel estará sujeto a los descuentos y exenciones estipulados mediante la Resolución CD N° 1072/19. Disponer que los fondos recaudados ingresen en la cuenta presupuestaria habilitada para tal fin, y sean utilizados de acuerdo a la Resolución 072/03.

ARTÍCULO 5º: Disponer que de no mediar modificaciones en el programa, la carga horaria y el arancel, el presente Curso de Posgrado tendrá una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la presente Resolución.

ARTÍCULO 6º: Comuníquese a todos los Departamentos Docentes, a la Dirección de Estudiantes y Graduados, a la Dirección de Movimiento de Fondos, a la Dirección de Presupuesto y Contabilidad, a la Biblioteca de la FCEyN y a la Secretaría de Posgrado con copia del programa incluida. Cumplido, pase QBIOLOGICA#FCEN y resérvese.

ANEXO

Programa

Caracterización y Aplicaciones Industriales de Enzimas Degradadoras de Polisacáridos de Pared Vegetal

El objetivo del curso es proveer conocimientos teóricos y prácticos sobre la identificación, caracterización bioquímica y aplicaciones industriales de enzimas activas sobre polisacáridos estructurales de la biomasa vegetal. Involucra las temáticas de identificación de enzimas microbianas activas sobre polisacáridos (CAZYmas); el clonado de las secuencias codificantes, la expresión recombinante y la purificación de las enzimas en estado activo: la caracterización bioquímica de la actividad enzimática y sus aplicaciones industriales, con particular énfasis en la obtención de biocombustibles. Se espera que los alumnos ganen conocimientos en la caracterización de enzimas activas sobre poli- y oligosacáridos, aprendan metodologías para comparación y modelado in silico de las proteínas, aprendan técnicas prácticas de medición de actividad celulasa y xilanasas, diseñen y realicen ensayos de deconstrucción de biomasa e interpreten los resultados de la aplicación de enzimas en la bioconversión de biomasa lignocelulósica para biocombustibles y bioproductos.

Contenidos teóricos

TEO 1: Estructura de los polisacáridos de pared vegetal (celulosa y hemicelulosa) y de los oligosacáridos que derivan de ellos. Microorganismos productores de enzimas activas sobre carbohidratos (CAZYmas). Clasificación, estructura y función de las enzimas. Identificación de proteínas por espectrometría de masas.

TEO 2: Estrategias de producción de celulasas y hemicelulasas microbianas. Expresión en sistemas recombinantes: clonado de secuencias codificantes, elección de huéspedes y vectores de expresión. Factores a considerar: uso de codones, compartimentalización subcelular, modificaciones postraduccionales, uso de etiquetas o fusiones para mejorar la solubilidad, estabilidad y purificación. Expresión en sistemas fúngicos y bacterianos nativos: El sistema de edición crispr-cas9 como estrategia para mejorar la expresión. Estrategias de extracción, purificación y conservación de las enzimas. Caracterización bioquímica: actividad, perfiles de pH y temperatura, estabilidad, constantes cinéticas.

TEO 3: Bioinformática de CAZYmas: identificación, comparación, modelado molecular. Dominios estructurales y funcionales. Complejos multienzimáticos y celulosomas naturales. Ingeniería enzimática. Colocación de enzimas, nanopartículas

y celulosomas artificiales. Simulaciones moleculares y modelos de reacción-difusión. Diseño de mutantes. Estabilización de enzimas.

TEO 4: Aplicación industrial de enzimas para la conversión de biomasa lignocelulósica a bioproductos y bioetanol. Relación estructura -función de CAZymas

Contenidos prácticos:

TP1: Determinación de actividad celulolítica y xilanolítica de extractos enzimáticos y enzimas recombinantes por medición de azúcares reductores (DNS)

TP2: Actividad enzimática sobre biomasa lignocelulósica, para maximizar la conversión de celulosa y hemicelulosa a monómeros fermentables. Cuantificación de productos de reacción por determinación colorimétrica enzimática de glucosa y por HPLC. Cálculos de conversión a monómeros fermentables

TP3: Modelado molecular y análisis estructural de enzimas recombinantes. Búsqueda de estructuras en PDB. Modelado por homología (SwissModel, Phyre, Modeller) y predicción estructural (AlphaFold). Predicción de cambios en la estabilidad de enzimas por efecto de mutaciones puntuales (FOLDX)

TP4: Identificación y cuantificación de productos de reacción de TP2, por cromatografía en capa delgada (TLC) y por HPAEC- DIONEX para cuantificación de productos Seminarios de trabajo de los estudiantes, relacionándolo con lo aprendido en el curso

Bibliografía:

Mondal, S., Halder, S.K. & Mondal, K.C. Tailoring in fungi for next generation cellulase production with special reference to CRISPR/CAS system. *SystMicrobiol and Biomanuf* (2021). <https://doi.org/10.1007/s43393-021-00045-9>

Lambertz, C., Garvey, M., Klinger, J. et al. Challenges and advances in the heterologous expression of cellulolytic enzymes: a review. *Biotechnol Biofuels* 7, 135 (2014). <https://doi.org/10.1186/s13068-014-0135-5>

Kun RS, Meng J, Salazar-Cerezo S, Mäkelä MR, de Vries RP, Garrigues S. CRISPR/Cas9 facilitates rapid generation of constitutive forms of transcription factors in *Aspergillus niger* through specific on-site genomic mutations resulting in increased

saccharification of plant biomass. *Enzyme Microb Technol.* (2020). doi:

10.1016/j.enzmictec.2020.109508

Garvey M, Klose H, Fischer R, Lambertz C, Commandeur U. Cellulases for biomass degradation: comparing recombinant cellulase expression platforms. *Trends Biotechnol.* (2013) (10):581-93. doi: 10.1016/j.tibtech.2013.06.006.

Fang, H., Li, C., Zhao, J. et al. Biotechnological Advances and Trends in Engineering *Trichoderma reesei* towards Cellulase Hyperproducer. *Biotechnol Bioproc E* 26, 517–528 (2021). <https://doi.org/10.1007/s12257-020-0243-y>

Dinmukhamed, T., Huang, Z., Liu, Y. et al. Current advances in design and engineering strategies of industrial enzymes. *Syst Microbiol and Biomanuf* 1, 15–23 (2021). <https://doi.org/10.1007/s43393-020-00005-9>

Chettri D, Verma AK, Verma AK. Innovations in CAZyme gene diversity and its modification for biorefinery applications. *Biotechnol Rep (Amst)*. 2020 Sep 1;28:e00525. doi: 10.1016/j.btre.2020.e00525. PMID: 32963975; PMCID: PMC7490808.

Biswas, R., Persad, A. and Bisaria, V.S. (2014). Production of Cellulolytic Enzymes. In *Bioprocessing of Renewable Resources to Commodity Bioproducts* (eds V.S. Bisaria and A. Kondo). <https://doi.org/10.1002/9781118845394.ch5>

Bhati, N, Shreya, , Sharma, AK. Cost-effective cellulase production, improvement strategies, and future challenges. *J Food Process Eng.* 2021; 44:e13623. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13623>

Bhardwaj, N., Kumar, B. & Verma, P. A detailed overview of xylanases: an emerging biomolecule for current and future prospective. *Bioresour. Bioprocess.* 6, 40 (2019). <https://doi.org/10.1186/s40643-019-0276-2>

