



Curso “Bootcamp Virtual: Ambientes de experimentación para el diseño de clases transformadoras”- Programa Virtual de Formación Docente

Docentes: María Victoria Castro y Julia De Souza

Unidad Académica: Farmacia y Bioquímica

Materia: Biotecnología

Alumna: María Perassolo

Año: 2023



.UBAACADÉMICA

Secretaría de
Asuntos Académicos

Mi nombre es María Perassolo, y elegí la opción de presentar 2 actividades no relacionadas usando 2 herramientas diferentes.

Soy docente de Biotecnología en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UBA. Damos materias de grado a alumnos de Farmacia, Bioquímica y Licenciatura en Alimentos.

Actividad 1: Uso de la herramienta Miró

La materia Biotecnología es una materia obligatoria del 8° cuatrimestre de la carrera de Bioquímica. Se desarrolla durante las 7 últimas semanas de cursada, con 6 horas de cursada semanal. Recibimos aproximadamente 150 alumnos, distribuidos en 4 comisiones.

La materia está organizada en 5 clases teórico - prácticas. En general se da un seminario con los conceptos más relevantes del tema a presentar, y luego se trabaja con los mismos mediante resolución de problemas, cálculos, análisis y discusión de trabajos científicos.

Las últimas dos semanas se dedican al trabajo práctico en laboratorio, donde se sigue un protocolo de trabajo, se toman muestras, se hacen determinaciones analíticas, y se analizan los resultados obtenidos. En el laboratorio se retoman varios conceptos vistos en las clases anteriores. El trabajo práctico consiste en la producción de dos proteínas recombinantes en una bacteria, mediante dos estrategias diferentes. Se realizan operaciones como cultivo, inducción de la expresión, y purificación de la proteína recombinante.

El cronograma es el siguiente:

Semana 1: Clonado y Biología Molecular

Semana 2: Cultivo en Batch

Semana 3: Inmovilización y Biotransformaciones

Semana 4: Evaluación 1. Recuperación y Purificación de proteínas

Semana 5: Análisis de casos

Semana 6: TP en laboratorio

Semana 7: TP en laboratorio. Evaluación 2.

Mi propuesta pedagógica es usar la herramienta Miró sería la elaboración de un diagrama de flujo con trabajo colaborativo y editable, transversal a la cursada. El mismo lo elaborarán y editarán los alumnos a lo largo de la cursada. Podrían también usar el recurso de dejar "post it" para hacer comentarios al respecto de lo que vayan armando.

El diagrama de flujo estaría destinado a desarrollar una actividad similar a la del TP (4 propuestas ligeramente diferentes pero similares en cuanto a la generalidad), y la elaboración de un protocolo de trabajo.

Los alumnos se dividirán en 8 grupos por comisión, es decir, que las propuestas serán llevadas a cabo por 2 grupos en simultáneo por cada comisión.

Durante cada semana, se trabajará sobre una consigna en relación al diagrama y al protocolo a elaborar, y en las clases se dedicará un espacio a discutir este tópico. Todas las semanas se desarrollarán nuevas consignas, que permitirán completar el diagrama de flujo de cada grupo y

elaborar un protocolo de trabajo. Incluso, se enviarán resultados o imágenes para que puedan tomar decisiones sobre si avanzar o no. El trabajo finalizaría en la semana 5, donde cada grupo presentaría su caso, su protocolo y su diagrama

En paralelo, se podría incluir la herramienta Discord, para armar los grupos de los alumnos, donde puedan compartir información, incluso generando canales de voz (en horarios predeterminados, a modo de “clase de consulta”, y que el canal de texto sea libre de horario para su uso.

Voy a presentar una propuesta modelo:

Consigna, primera semana:

Tienen que desarrollar un bioproceso para producir Interferon beta en *Escherichia coli*. El interferón beta es una proteína humana que se usa en terapéutica para el tratamiento de enfermedades autoinmunes. Si bien se trata de una proteína glicosilada, existe en el mercado una variante sin modificaciones post traduccionales que funciona de manera adecuada.

Algunas consideraciones para esta etapa (que ya definimos nosotros), serían el propósito de la proteína (uso), demanda (en g, mg o unidades), costo

El primer paso consistiría en que investiguen y definan las siguientes cuestiones para el clonado de la secuencia que codifica para el interferón:

Características fisicoquímicas relevantes del interferon beta

¿Glicosilado?

¿Puentes disulfuro?

¿Peso molecular?

¿Hidrofobicidad?

¿pI?

¿sensibilidad a pH y fuerza iónica?

Alguna otra característica relevante (se oligomeriza fácilmente)

¿Cómo voy a monitorear la cantidad y calidad de la proteína a producir y de sus potenciales contaminantes?

A partir de los manuales disponibles en el campus de vectores de expresión posibles, ¿qué vector elegirían?

¿A partir de qué fuente obtendrían la secuencia de ADN de la proteína? Considerar si es necesario diseñar primers, modificar la secuencia, hacer extracción de ADN, ARN, PCR, cortes con enzimas de restricción, etc. Para esta etapa, sólo considerar si es necesario el paso, más adelante se hará el detalle

A partir de las cepas de E. coli presentadas en clase, elegir una como huésped de expresión y justificar.

Comenzar el diagrama de Flujo en Miró, resumiendo los puntos claves a considerar a la hora de diseñar una estrategia de clonado.

Consigna, semana 2

En esta etapa, vamos a trabajar sobre las características del cultivo a desarrollar. Pueden usar la bibliografía que está en el campus o pueden buscar otras fuentes. Les sugerimos que los intercambios los hagan a través de Discord, así podemos ayudarlos.

Características del cultivo de E. coli

Sistema de cultivo empleado y escala de trabajo

Fuente de C

Fuente de N

¿Es relevante controlar el pH?

¿Cuál es el valor de μ y del tiempo de duplicación de bibliografía?

¿Cómo monitoreo el crecimiento?

Estrategia de expresión

Según el vector elegido, ¿Dónde se va a acumular la proteína? ¿Deseo que se encuentre soluble o desnaturalizada?

En función del vector elegido, ¿en qué momento y en qué concentración se agrega el inductor?

¿Cuál es el perfil de temperatura a mantener?

¿Cuánto tiempo se prolonga la fase de inducción?

¿Cómo sé en qué momento agregar el inductor?

¿Cómo puedo saber si la producción de la proteína recombinante tiene efectos sobre el crecimiento de E. coli?

Continuar el diagrama de Flujo en Miró, resumiendo los puntos claves a considerar a la hora de diseñar el proceso de producción.

Consigna, semana 3

En esta etapa, vamos a plantear el protocolo a seguir para construir el organismo recombinante.

¿Cómo integro la secuencia de ADN de la proteína de interés en el vector elegido? ¿Qué controles realizo?

¿Cómo transformo la cepa de E. coli de expresión con el vector elegido? ¿Qué controles realizo?
¿Cuántas colonias analizo?

En estos dos casos, mencionen detalladamente las etapas, pasos y los controles del proceso. Redacten el protocolo de trabajo.

Incorporen las etapas de clonado y transformación al diagrama de flujo de Miró.

Consigna, semana 4

PARTE A: Durante esta semana, van a plantear un protocolo sencillo de purificación preliminar de su proteína.

¿Cuáles son las variables a considerar para diseñar la estrategia de purificación (estrategia de expresión usada, las características de la proteína y los principales contaminantes).

Diseñen una estrategia de purificación preliminar que incluya un paso de separación sólido líquido, y 1 cromatografía (éste último paso que permita “eliminar” al contaminante mayoritario). Detalle: Composición de los buffers, volumen de siembra y elución, tiempos y temperatura de incubación, etc.

Proteína	Peso molecular (kDa)	Hidrofobicidad [(NH ₄) ₂ SO ₄] de elución	pI	Concentración (mg/ml)
A	30	1,0	5,0	5,0
B	30	1,0	8,0	0,1
C	60	2,0	8,0	8,0
X	30	1,0	8,0	3,2

¿Cómo calcula la performance de cada etapa de la estrategia? ¿Qué determinaciones analíticas debería realizar?

Incluir esta información en el protocolo que están armando

PARTE B: Se les entregará a los alumnos resultados (realizados por los docentes), de las etapas de clonado y transformación y sus controles (imágenes de geles, fotos de placas, resultados de secuenciación). En algunos casos, la información será dudosa y tendrán que solicitar nuevos análisis.

La información desarrollada en A y B se incluirán en el diagrama de flujo.

Semana 5:

Presentación de los distintos grupos, del protocolo y del diagrama de flujo.

CONSIGNA: En función de los diagramas de flujo planteados y de la información de la guía de TP, adaptar el diagrama a lo que se va a hacer en los TP.

Link a un Diagrama de flujo en Miró (un ejemplo)

https://miro.com/welcomeonboard/MWx4eTJ1UmJ2aTZlczdlUGIMaExLZ014TmpQZWF6YkE2Q1ZsN2ZBYktKb2VyWk9QcFJRTEpVR3QxaXgxQ1RBWxwzNDU4NzY0NTQ5OTM3MDk1NTY4fDI=?share_link_id=372238181245

Actividad 2: Uso de la herramienta Genially

La materia Procesos de Biotecnología es una materia obligatoria de la orientación Industrial del 11° cuatrimestre de la carrera de Bioquímica. Se desarrolla durante las 7 primeras semanas de cursada, con 4 horas de cursada semanal. Recibimos aproximadamente 10-15 alumnos, distribuidos en 1 comisión.

La primera mitad de la materia está organizada en 3 clases teórico - prácticas. En general se da un seminario con los conceptos más relevantes del tema a presentar, y luego se trabaja con los mismos mediante resolución de problemas y cálculos. Una semana de esta primera mitad se dedica al trabajo práctico en laboratorio.

En esta primera mitad, el paquete fuerte de contenidos son los sistemas de cultivo. Se trabaja con el desarrollo matemático de cada sistema, se realizan cálculos numéricos, se analizan datos de procesos y se diseñan procesos a partir de los mismos.

En la plataforma Genially realicé un juego estilo “elige tu propia aventura”, presentando una situación problemática de toma de decisiones sobre estos sistemas de cultivo. La idea es que, luego del TP, se les dé el link, para que lo prueben y traigan consultas y anotaciones a la clase siguiente, donde, además de discutir los datos del TP, se analizarán las “aventuras que recorrió cada uno”.

Adjunto el link del juego de Genially:

<https://view.genial.ly/6447e7cb84098a0011c8e603/interactive-content-disena-tu-bioprosesop;>