Ministerio de Cultura y Educación **(Programa del año 2006)**
Universidad Nacional de San Luis
Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia
Departamento: Quimica
Area: Qca Organica

I - Oferta Académica

Materia	Carrera	Plan	Año	Período
CRECIMIENTO Y CULTIVO CELULAR	BIOQUIMICA	26/90	6	1c
CRECIMIENTO Y CULTIVO VEGETAL	LIC.BIOL.MOLEC.	1/99	4	1c

II - Equipo Docente

Docente	Función	Cargo	Dedicación
KURINA SANZ, MARCELA BEATRIZ	Prof. Responsable	P.ASO EXC	40 Hs
ORDEN, ALEJANDRO AGUSTIN	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**
48 Hs	Hs	Hs	32 Hs	10 Hs

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

Duración			
Desde	**Hasta**	**Cantidad de Semanas**	**Cantidad de Horas**
17/04/2006	09/06/2006	8	80

IV - Fundamentación

Al ingresar a este curso, el alumno ha recibido una formación básica de Química Orgánica, Química Biológica y Microbiológica. Los temas comprenden consideraciones básicas a cerca del cultivo in-vitro de especies vegetales y su aplicación en la producción y bioconversión de metabolitos secundarios. Además del análisis de estrategias biotecnológicas para incrementar la acumulación de compuestos derivados del metabolismo secundario vegetal en diferentes variables de cultivo.

V - Objetivos

Estudiar los aspectos básicos que hacen al establecimiento de cultivos vegetales in-vitro.
· Introducir al conocimiento de la biosíntesis y el rol de los metabolitos secundarios de plantas necesario para analizar estrategias de producción.
· Conocer las distintas metodologías aplicables a la inducción de la acumulación de metabolitos secundarios de plantas en cultivos in-vitro.
· Aplicar los conocimientos adquiridos al diseño de experiencias prácticas y a la resolución de problemas concretos.

VI - Contenidos

Tema 1.
Biotecnologia vegetal. Fundamentos y aplicaciones: El cultivo in-vitro de células vegetales. Historia. Teoría de la totipotencia. Cultivos diferenciados. Cultivos indiferenciados. Cultivos celulares. Aplicaciones biotecnológicas.

Tema 2.
Iniciación de cultivos vegetales in-vitro. El Laboratorio de biotecnología vegetal. Esterilización del material vegetal. Medios de cultivo. Componentes: agua, aminoácidos, vitaminas, reguladores de crecimiento, componentes inorgánicos (macro y oligoelementos). Diferentes formulaciones de medios de cultivos líquidos y sólidos.

Tema 3.
Mantenimiento y Desarrollo de cultivos indiferenciados. Reguladores de crecimiento vegetal: auxinas, citoquininas, giberelinas, ácido absicico, etileno, oligosacáridos, jasmonatos, salicilatos, brasinólidos. Su aplicación en el mantenimiento de cultivos indiferenciados.

Tema 4.
Cultivos sumergidos. Manejo y aplicaciones. Suspensiones celulares. Agregados celulares. Curvas de crecimiento. Metodología para la evaluación de crecimiento, peso seco, peso fresco, volumen de empaquetamiento celular. Velocidad específica de crecimiento. Viabilidad. Condiciones de cultivo. Propiedades de las suspensiones celulares y de los cultivos organizados. Sensibilidad al efecto de corte. Tendencia a la agregación. Diseño de bioreactores para suspensiones celulares. Métodos de operación. Batch, contínuos, batch alimentados, semicontínuos.

Tema 5.
Producción de metabolitos secundarios. El metabolismos secundario. Rol fisiológico de los metabolitos secundarios. Utilización de metabolitos secundarios vegetales. Producción de metabolitos secundarios por cultivo in-vitro. Relación entre la producción de metabolitos y el crecimiento celular.

Tema 6.
Fenómeno de elicitación: Estrategias vegetales de defensa. Elicitores: Oligosacáridos, glicoproteínas, péptidos. Percepción y transducción de la señal elicitora. Proteínas de unión. Mecanismos de transducción: Cambios de flujo iónico y potencial de membrana. Proteinquinasas y proteinfosfatasas. Especies de oxígeno reactivas. Oxidación lipídica. Respuesta hipersensitiva y resistencia sistémica adquirida.
Elicitación de cultivos sumergidos: Estrategias para inducir la formación de metabolitos secundarios en suspensiones celulares. Elicitación biótica. Empleo de biopolímeros, fitorreguladores y cultivos de otras especies. Elicitación abiótica. Uso de metales pesados y factores físicos.

Tema 7.
Recuperación de metabolitos. Permeabilización e inmovilización. Metodologías empleadas para optimizar la recuperación de metabolitos. Permeabilización. Empleo de diferentes agentes permeabilizantes y viabilidad celular. Técnicas de inmovilización celular. Diferentes métodos de inmovilización. Aplicabilidad y ventajas. Inmovilización en perlas de alginato. Metodología. Uso de biorreactores en cultivos inmovilizados.

Tema 8. Producción de metabolitos secundarios en cultivos diferenciados. Raíces transformadas genéticamente. Obtención de cultivos de raíces en cabellera. Metodología. Aplicaciones. Uso de biorreactores en el cultivo de raíces. Cultivos de órganos. Características metodológicas y aplicaciones.

Tema 9. Biotransformaciones. Concepto de biotransformaciones xenobióticas y biosintéticamente dirigidas. Biotransformaciones con cultivos celulares. Tipos de reacciones. Aplicación de los procesos de biotransformación. Obtención de nuevos compuestos químicos. Cultivos vegetales para el estudio bioquímico de producción de metabolitos secundarios. Incorporación de precursores.

Tema 10. Biorreactores para células vegetales. Características que afectan al diseño: Tamaño celular. Velocidad de crecimiento y densidad del inóculo. Producción de espuma. Configuración de Biorreactores. Tanque agitado. Columna de burbujas. Air lift. Transferencia de oxígeno. Agitación. Efecto de corte. Mezclado: Diseño de impellers. Biorreactores para cultivos de tejidos organizados y células inmovilizadas. Modos de operaración: Batch, batch alimentado, semicontínuo, contínuo, perfusión.

Tema 11. Manipulación genética en la formación de metabolitos secundarios. Introducción a los métodos de transformación genética de vegetales. Diferentes métodos de transformación. Transformación de especies mono y dicotiledóneas. Aplicaciones actuales. Producción de proteínas en cultivos de tejidos vegetales. Perspectivas futuras del manejo del metabolismo secundario.

VII - Plan de Trabajos Prácticos

1.- Preparación de medios de cultivo. Esterilización.
2.- Iniciación y mantenimiento de cultivos indiferenciados en medio sólido.
3.- Iniciación y manteniemiento de suspensiones celulares.
4.- Evaluación de crecimiento celular.
5.- Evaluación de la produccion de metabolitos secundarios, mediante el empleo de diferentes técnicas analíticas instrumentales.
6- Biotransformaciones xenobióticas con cultivos dediferenciados.
7- Mantenimiento de cultivos de raíces transformadas.

VIII - Regimen de Aprobación

Para promocionar: El alumno deberá cumplimentar la totalidad de los trabajos prácticos y aprobar con nota mínima de 7 (siete) la exposición de seminarios y la evaluación integral escrita.
Para regularizar: El alumno deberá cumplimentar la totalidad de los trabajos prácticos y aprobar con nota mínima de 4 (cuatro) la exposición de seminarios y la evaluación integral escrita.
Aprobación mediante examen final: El alumno que alcance la regularidad deberá aprobar una evaluación final escrita, en un turno de examen habilitado por la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia.

IX - Bibliografía Básica

[1] Plant Cell Culture. R. Dixon and R. Gonzales. 2ª De. IRL Press. 1994.
[2] Plant Biotechnology. M. Flower and G. Warver. De. Pergamon Press. 1991.
[3] Chemistry of Plant Hormone. N. Takahashi. De. CRC Press Inc. Boca Ratón 1986.
[4] Plant an Tissue culture in Liquid Systems. G Payne, N. Bringi, C. Prince and M. Schule. Editorial Hanson Publishers, 1991.
[5] Plant Tissue as Source of Biochemicals D. Dougall. Editorial CRC Press, Boca Raton 1980.
[6] Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology. JJ Zhong Ed.Springer. Año 2001. ISSN 1616-8542

X - Bibliografia Complementaria

[1] Secondary Products from Plant Tissue Cultures. H. Becker and M. Saverwein. Editorial Clarendom Press, Oxford, 1990.
[2] Organic Chemistry Of Secondary Plant Metabolism. T.A. Geisman, D.H.G. Crout Freeman, Cooper.
[3] The Biosynthesis Of Secondary Metabolites. Richard B. Herbert. 2da. Edition. Chapman And Hall
[4] Ingeniería Bioquímica. Gódia Casablanca y López Santin. Ed. Síntesis. Año 2000 ISBN 847738-611.
[5] Revistas: Planta, Phytochemistry, Plant Physiol., Appl. Microbiol. Biotechnol., Planta Medica, The Plant Cell, In Vitro, FEBS, Journal of Biotechnol., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Science, Nature, Nat. Prod. Letters, Physiol. Plantarum, Plant Cell Physiol., J. of Plant Growth Regulators, etc.

XI - Resumen de Objetivos

El curso propone estudiar los aspectos básicos que hacen al establecimiento de cultivos vegetales in-vitro.
Introducir al alumno al conocimiento de la biosíntesis y el rol de los metabolitos secundarios de plantas necesario para programar estrategias de producción.

Brindar herramientas para planificar el uso de distintas metodologías aplicables a la inducción de la acumulación de metabolitos secundarios de plantas mediante el análisis de aspectos relacionados con las interrelaciones entre especies y ambientales.
Incentivar al estudiante a aplicar los conocimientos adquiridos al diseño de experiencias prácticas y a la resolución de problemas concretos.

XII - Resumen del Programa

Tema 1: Biotecnología vegetal. Fundamentos y aplicaciones
Tema 2: Iniciación de cultivos vegetales in-vitro.
Tema 3: Mantenimiento y Desarrollo de cultivos indiferenciados.
Tema 4: Cultivos sumergidos.
Tema 5: Producción de metabolitos secundarios.
Tema 6: Elicitación de cultivos sumergidos.
Tema 7: Recuperación de metabolitos. Permeabilización e inmovilización.
Tema 8: Estrategias para la producción de metabolitos secundarios en cultivos diferenciados. Raíces genéticamente transformadas.
Tema 9: Biotransformaciones con tejidos vegetales.
Tema 10: Biorreactores para células vegetales.
Tema 11: Manipulación genética en la formación de metabolitos secundarios. Producción de proteínas con cultivos celulares vegetales.

XIII - Imprevistos