

Tabla de Contenido

1. Introducción	1
1.1. Antecedentes generales	1
1.2. Planteamiento del problema	3
1.2.1. Descripción del proyecto	3
1.2.2. Justificación	3
1.3. Objetivos	4
1.3.1. Objetivo general	4
1.3.2. Objetivos específicos	4
1.4. Resultados esperados	4
2. Marco teórico	5
2.1. Diseño de medio	5
2.1.1. Medios de cultivo estequiométricos	5
2.1.2. Caracterización cuantitativa del crecimiento celular	8
2.1.3. Diseño de medio por medio de nutrientes consumidos	10
2.2. Análisis de Flujo Metabólico - MFA	10
2.2.1. Definir ecuaciones estequiométricas	12
2.2.2. Balance de carbono y nitrógeno	14
3. Metodología	15
3.1. Recopilación bibliográfica y comparación de medios de cultivos reportados	15
3.2. Caracterización de crecimiento celular	15
3.3. Análisis de medio de cultivo	16
3.3.1. Concentración de aminoácidos	16
3.3.2. Concentración de fuentes de carbono	17
3.3.3. Otras concentraciones de metabolitos relevantes	17
3.4. Análisis de Flujo Metabólico - MFA	17
3.5. Diseño por medio de nutrientes consumidos	18
4. Medios de cultivo	19
4.1. Contexto histórico	19
4.2. Comparación de medios de cultivos en la literatura	20
4.2.1. Sales inorgánicas	21
4.2.2. Aminoácidos	22
4.2.3. Vitaminas	24
4.2.4. Azúcares	25

4.2.5. Otros componentes	26
5. Resultados y discusiones	27
5.1. Curva de crecimiento de cada medio	27
5.2. Concentración inicial de los medios de cultivo	28
5.3. Medio Grace's	29
5.3.1. Caracterización de curva de crecimiento en Medio Grace's	29
5.3.2. Curvas cinéticas	31
5.3.3. Razón estequiométrica según datos medidos	36
5.3.4. Composición propuesta basada en medio Grace's utilizando datos obtenidos	37
5.3.5. Flujos metabólicos en el metabolismo central	38
5.3.6. Razón entre velocidades de consumo calculadas y velocidades estimadas con MFA	41
5.3.7. Composición propuesta basado en el medio Grace's utilizando MFA	42
5.4. Medio L15	43
5.4.1. Caracterización de curva de crecimiento en Medio L15	43
5.4.2. Curvas cinéticas	44
5.4.3. Radios estequiométricos según datos medidos	48
5.4.4. Composición propuesta basada en medio L15 utilizando datos obtenidos	49
5.4.5. Flujos metabólicos en el metabolismo central	51
5.4.6. Razón entre velocidades de consumo calculadas y velocidades estimadas con MFA	52
5.4.7. Composición propuesta basada en el medio L15 utilizando MFA	54
5.5. Medio SFX	55
5.5.1. Caracterización de curva de crecimiento en Medio SFX	55
5.5.2. Curvas cinéticas	56
5.5.3. Radios estequiométricos	60
5.5.4. Composición propuesta basada en medio SFX utilizando datos obtenidos	62
5.5.5. Flujos metabólicos en el metabolismo central	63
5.5.6. Razón entre velocidades de consumo calculadas y velocidades estimadas con MFA	64
5.5.7. Composición propuesta basada en el medio SFX utilizando MFA	66
5.6. Comparación de los tres medios con Análisis de Flujo Metabólico	67
5.6.1. Tabla comparativa de aminoácidos que se deben agregar según datos obtenidos y MFA	68
5.6.2. Tabla comparativa de la propuesta concentración de aminoácidos y azúcares para los medios de cultivo	69
 Conclusión	 72
 Bibliografía	 74
A. Metodología de medición de aminoácidos mediante HPLC	78
B. Determinación de concentración de metabolitos	83
C. Metodología para determinación de concentración de glucosa/sacarosa	101

D. Metodología para determinación de concentración de amonio	104
E. Metodología para determinación de concentración de lactato	107
F. Metodología de medición de glutamato y glutamina	110