



UB Universidad de Boyacá

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

Manual de Prácticas de

Biología Molecular

*Elsa Helena Manjarres Hernández
Bióloga de la Universidad Nacional
MSc. Ciencias Biológicas de la UPTC
Docente del Departamento de Biología
y Microbiología de la Universidad de Boyacá*

*Leidy Yanira Rache Cardenal
Bióloga de la UPTC
MSc. Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional
Docente del Departamento de Biología
y Microbiología de la Universidad de Boyacá*

© Los autores

Elsa Helena Manjarres Hernández
Leidy Yanira Rache Cardenal

RECTORA

Dra. Rosita Cuervo Payeras

VICERRECTOR ACADÉMICO

Ing. Rodrigo Correal Cuervo

VICERRECTOR DESARROLLO INSTITUCIONAL

Ing. Andrés Correal Cuervo

VICERRECTORA INVESTIGACIÓN, CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Ing. Claudia Patricia Quevedo Vargas

VICERRECTORA EDUCACIÓN VIRTUAL

Ing. Carmenza Montañez Torres

DISEÑO Y DIAGRAMACIÓN

División de Publicaciones

DISEÑO DE CUBIERTA

D.G. Johan Camilo Agudelo Solano

DISEÑO Y DIAGRAMACIÓN

D.G. Daniel Francisco Dueñas Mora

©

EDICIONES
UNIVERSIDAD DE BOYACÁ
Carrera 2ª Este N° 64-169
TELS.: (8) 7452742 - 7450000
Ext. 3106

www.uniboyaca.edu.co
informa@uniboyaca.edu.co
publicaciones@uniboyaca.edu.co
TUNJA-BOYACÁ-COLOMBIA

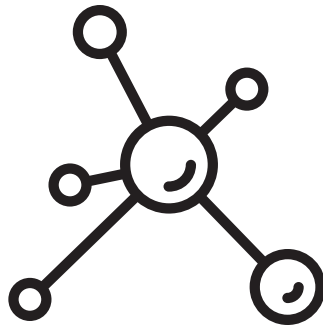
ISBN: 978-958-8642-70-3

Esta edición y sus características gráficas son propiedad de la

UB Universidad de Boyacá

© 2017

Queda prohibida la reproducción parcial o total de este libro, por medio de cualquier proceso reprográfico o fónico, especialmente fotocopia, microfilme, offset o mimeógrafo (Ley 23 de 1982).



PRESENTACIÓN

El estudio de la biología molecular ha logrado avanzar significativamente en aspectos relacionados con biotecnología, generando actualmente gran impacto en varias ciencias, dentro de ellas las biomédicas, aportando al diagnóstico molecular y la terapia génica, que tiene sus bases en el conocimiento del genoma humano, por otra parte el estudio de microorganismos, plantas y animales a nivel molecular ofrece diferentes estrategias y herramientas para solucionar problemas a nivel industrial, agropecuario y ambiental.

Tras descifrar el código genético y la secuenciación del genoma humano, se desarrollaron varias técnicas y metodologías, cuyo objetivo es entender los seres vivos desde el punto de vista molecular, comprender y explicar la relación entre las células y las funciones que se desarrollan en cada una de ellas, específicamente estudia los mecanismos por los cuales el ADN codifica y expresa las proteínas necesarias para que las células realicen sus funciones y determinen el fenotipo de un organismo.

Por lo tanto este manual presenta una serie de técnicas básicas en biología molecular, que de manera práctica permiten iniciar a los estudiantes en el manejo de instrumental especial y los equipos necesarios para realizar los procesos de extracción de ADN (Procariota y Eucariota), electroforesis de ácidos nucleicos, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y uso de enzimas de restricción. De esta manera los estudiantes adquieren una serie de herramientas metodológicas básicas, para enfrentarse a su quehacer profesional o a investigaciones futuras.

Este documento fue elaborado por las Biólogas Elsa Helena Manjarres Hernández y Leidy Yanira Rache, docentes adscritas al Departamento de Biología y Microbiología, de la Facultad de Ciencias e Ingeniería, quienes han desarrollado cursos, investigaciones y actualmente sus estudios de doctorado en el área abordada en el texto.

Finalmente, quiero resaltar la calidad del presente manual, que expone de forma sencilla y didáctica, técnicas avanzadas en el campo de la biología molecular, útiles para estudiantes y profesionales interesados en el aprendizaje del tema.

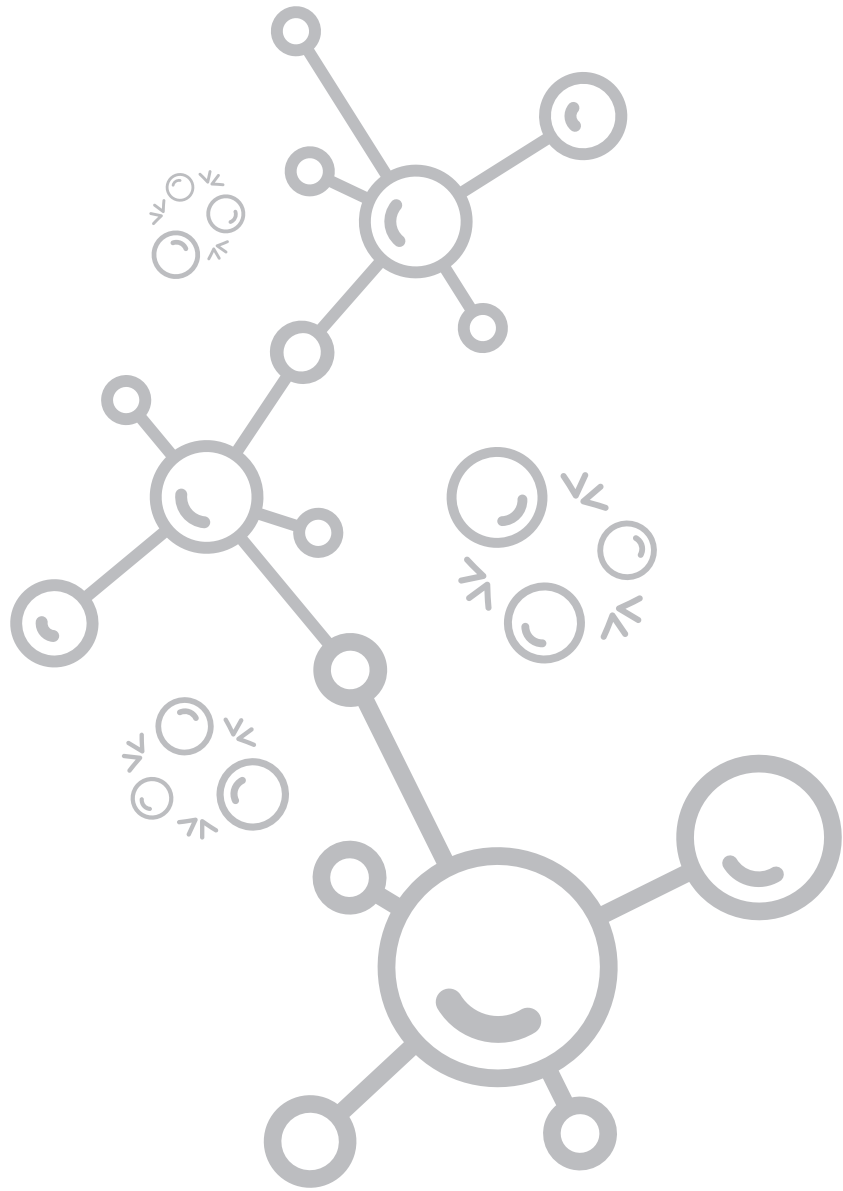
Claudia Patricia Quevedo Vargas

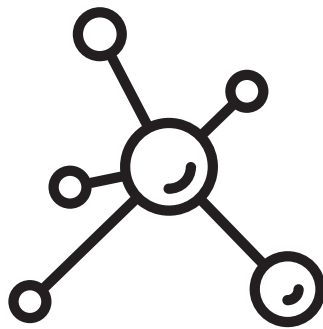
Vicerrectora de Investigación Ciencia y Tecnología



CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	9
BIOSEGURIDAD, INTRODUCCIÓN Y RECOMENDACIONES PARA EL TRABAJO EN EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR	10
DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE EXACTITUD (E%) Y EL COEFICIENTE DE VARIACIÓN (CV%) DE LA MICROPIPETA	26
INFLUENCIA DE LA FUERZA CENTRÍFUGA SOBRE LA VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN	40
EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS DESOXIRIBONUCLEICOS (ADN)	58
4.1 EXTRACCIÓN ADN GENÓMICO DE CÉLULAS EUCARIOTAS (EPITELIO BUCAL)	62
4.2 EXTRACCIÓN ADN GENÓMICO DE CÉLULAS PROCARIOTAS (BACTERIAS GRAM NEGATIVAS)	71
ANÁLISIS DEL ADN EXTRAÍDO (ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA Y ESPECTROFOTOMETRÍA)	80
5.1 PREPARACIÓN DEL GEL DE AGAROSA.	84
5.2 ELECTROFORESIS	93
REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)	104
6.1 DISEÑO DE CEBADORES, INICIADORES O PRIMERS.	108
6.2 PCR PARA AMPLIFICAR GEN 16S ADN _r DE CÉLULAS PROCARIOTAS	117
6.3 ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA PARA PRODUCTOS DE PCR.	129
ENZIMAS DE RESTRICCIÓN	140





INTRODUCCIÓN

La biología molecular estudia la vida a nivel molecular, busca entender y explicar la relación entre las células y las funciones que se desarrollan en cada una de ellas, específicamente estudia los mecanismos por los cuales el ADN codifica y expresa las proteínas necesarias para que las células realicen sus funciones y determinen el fenotipo de un organismo. Esta rama de la biología se inició con el descubrimiento de la estructura de doble hélice del ADN propuesta por James Watson, Maurice Wilkins, Rosalind Franklin y Francis Crick; y adquirió gran importancia cuando se estableció que dicha molécula es la portadora de la información que controla el fenotipo de los seres vivos.

A partir de los estudios realizados a nivel molecular se ha logrado avanzar en aspectos biotecnológicos y hoy en día presenta un gran impacto en las ciencias médicas, sobre todo en el diagnóstico molecular y la terapia génica, que tiene sus bases en el conocimiento del genoma humano. A nivel de las ciencias médicas, las técnicas moleculares, son utilizadas para el diagnóstico de diferentes enfermedades humanas, debidas a problemas en la expresión o falta de expresión de uno o varios genes. También en el estudio de microorganismos, plantas y animales ofreciendo diferentes estrategias y herramientas para solucionar problemas a nivel industrial, agropecuario y ambiental.

Siendo una rama de estudio tan interesante, en este manual se proponen prácticas básicas que le permitirán al estudiante reforzar y aplicar los conocimientos adquiridos en teoría facilitando su aprendizaje. Se propone una secuencia de prácticas que inician con información acerca de las normas de bioseguridad, el conocimiento y utilización de los materiales y equipos del laboratorio, extracción de ADN de células eucariotas y procariotas, aplicación de algunas técnicas moleculares como PCR, electroforesis en gel de agarosa y uso de enzimas de restricción. Después de realizar todas las prácticas propuestas en el manual, el estudiante identificará la molécula de ADN y aplicará algunas de las técnicas moleculares utilizadas para el análisis de esta biomolécula, adquiriendo al mismo tiempo cierta habilidad para el manejo de los materiales y equipos presentes en el laboratorio de biología molecular.

