RESUMEN – TRABAJO DE GRADO

AUTORES	**MYRIAM HELENA ARCOS JIMENEZ**
FACULTAD	**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE**
PLAN DE ESTUDIOS	**ZOOTECNIA**
DIRECTOR	**JULINA ANDREA CUETIA LONDOÑO**
TÍTULO DE LA TESIS	**DESARROLLO E IMPLEMENTACIÓN DE PROTOCOLOS Y GUÍAS EN EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER OCAÑA PARA EL ESTUDIO GENÓMICO DE ESPECIES PECUARIAS.**

RESUMEN
(70 palabras aproximadamente)

CON EL OBJETIVO DE INICIAR ESTUDIOS EN EL ÁREA DE LA GENÓMICA Y EMPRENDER EL ANÁLISIS MOLECULAR DE LAS ESPECIES PECUARIAS EN LA UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER OCAÑA, SE ESTABLECE LA EJECUCIÓN PARA EL FUNCIONAMIENTO DEL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR POR MEDIO DE LA REALIZACIÓN DE UN CONJUNTO DE ACTIVIDADES, QUE INICIA CON LA RECOPILACIÓN DE MATERIAL BIBLIOGRÁFICO, SU REVISIÓN Y POSTERIOR ANÁLISIS, SEGUIDO DE UN DISEÑO DE PROTOCOLOS PARA EL DESARROLLO DE TÉCNICAS MOLECULARES Y FINALMENTE BRINDAR APOYO PROFESIONAL AL DESARROLLO DE PRÁCTICAS ACADÉMICAS; CON EL CUMPLIMIENTO DE ESTOS OBJETIVOS SE LOGRÓ ESTABLECER PROCEDIMIENTOS EN EL LABORATORIO A NIVEL INVESTIGATIVO Y ACADÉMICO QUE PERMITEN APORTAR A LA CREACIÓN DE ESPACIOS PROPICIOS PARA LA EXTENSIÓN Y EL APRENDIZAJE DE LAS TÉCNICAS MOLECULARES

CARACTERÍSTICAS

PÁGINAS:	PLANOS:	ILUSTRACIONES:	CD-ROM:

DESARROLLO E IMPLEMENTACIÓN DE PROTOCOLOS Y GUÍAS EN EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER OCAÑA PARA EL ESTUDIO GENÓMICO DE ESPECIES PECUARIAS.

AUTOR

MYRIAM HELENA ARCOS JIMENEZ
Estudiante

Trabajo de grado presentado para obtener el título de Zootecnista

JULINA ANDREA CUETIA LONDOÑO
DIRECTORA

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER OCAÑA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
`PLAN DE ESTUDIOS DE ZOOTECNIA

Ocaña, Colombia **Octubre, 2016**

Índice

Capítulo 1. Desarrollo e implementación de protocolos y guías en el laboratorio de biología molecular de la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña para el estudio genómico de especies pecuarias 12

1.1 Descripción breve de la empresa 12

1.1.1 Misión. 13

1.1.2 Visión. 13

1.1.3 Objetivo de la empresa. 13

1.1.4 Descripción de la estructura organizacional. 14

1.1.5 Descripción de la dependencia a la que fue asignado. 16

1.2 Diagnóstico inicial de la dependencia asignada. 16

1.2.1 Planteamiento del problema. 18

1.3 Objetivos de la pasantía 19

1.3.1 Objetivo general. 19

1.3.2 Objetivos específicos. 20

1.4 Descripción de las actividades a desarrollar en la misma. 20

Capítulo 2. Marco Referencial **..... 22**

2.1 Marco Histórico 22

2.2 Marco Contextual 27

2.3 Marco Teórico 27

2.4 Marco Conceptual 36

2.5 Marco Legal 49

Capítulo 3. Informe de Cumplimiento de Trabajo **..... 52**

3.1 Presentación de Resultados 52

3.1.1 Recopilación, revisión y análisis de material bibliográfico. 53

3.1.2 Elaboración de las guías y protocolos a implementar. 57

3.1.3 Desarrollo de prácticas académicas. 59

Capítulo 4. Diagnóstico 62

Conclusión.....63

Recomendaciones 64

Referencias.....66

Apéndices 76

Lista de Tablas.

Tabla 1. Información de apoyo para el desarrollo de protocolos y guías de laboratorio aplicados a procesos investigativos y académicos. 54
Tabla 2. Información a la que se recurre para realizar manuales de manejo de equipos. 55
Tabla 3. Información recolectada sobre normas de bioseguridad. 56
Tabla 4. Información consultada para elaborar el reglamento interno del laboratorio de biología molecular 56

Lista de Figuras.

Figura N° 1. Normas de bioseguridad 60
Figura N° 2. Equipos básicos de laboratorio de biología molecular 60
Figura N° 3. Uso y calibración de micropipetas 61
Figura N° 4. Extración de ADN de tejidos vegetales 61

Lista de Apéndices

Apéndice 1. Inventario de reactivos del laboratorio..... 77
Apéndice 2. Fichas de seguridad de los productos químicos existentes en el laboratorio.... 79
Apéndice 3. Manuales de procedimientos de equipos..... 80
Apéndice 4. Normas de bioseguridad dentro del laboratorio..... 81
Apéndice 5. Reglamento interno..... 82
Apéndice 6Formatos de hojas de vida de cada equipo que refleja la historia de reporte de calibraciones, mantenimiento y registro de usabilidad de equipos dentro y fuera del laboratorio en calidad de préstamo..... 83
Apéndice 7. Formato de control de ingreso de personal. 84
Apéndice. 8. Precipitación de ADN con etanol...... 85
Apéndice 9. Precipitación de ADN con isopropanol...... 86
Apéndice 10. Concentración de ácidos nucleicos por extracción con butanol 87
Apéndice 11. Aislamiento de ADN de alto peso molecular usando solventes orgánicos (Fenol: cloroformo) para purificar ADN...... 88
Apéndice 12. Aislamiento de ADN de bacterias gram negativas (ej., E. coli). 89
Apéndice 13. Aislamiento del ADN de alto peso molecular de células de mamíferos usando proteinasa k y fenol...... 90
Apéndice 14 Preparación de ADN genómico de pequeñas muestras de tejido (cola de ratón) y protocolos alternativos...... 91
Apéndice 15. Aislamiento rápido de ADN genómico de levaduras. 92
Apéndice 16. Cuantificación de ADN genómico, uso de bromuro de etidio para estimar la concentración cualitativa de ADN, en bandas después de electroforesis a través de minigeles...... 93
Apéndice 17. Guía de normas de bioseguridad...... 94
Apéndice 18. Guía de equipos básicos del laboratorio de biología molecular...... 95
Apéndice 19. Guía de micropipetas, uso y calibración...... 96
apéndice 20. Guía de extracción de ADN de tejidos vegetales...... 97

Resumen

Con el objetivo de iniciar estudios en el área de la genómica y emprender el análisis molecular de las especies pecuarias en la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña, se establece la ejecución para el funcionamiento del laboratorio de biología molecular por medio de la realización de un conjunto de actividades, que inicia con la recopilación de material bibliográfico, su revisión y posterior análisis, seguido de un diseño de protocolos para el desarrollo de técnicas moleculares y finalmente brindar apoyo profesional al desarrollo de prácticas académicas; con el cumplimiento de estos objetivos se logró establecer procedimientos en el laboratorio a nivel investigativo y académico que permiten aportar a la creación de espacios propicios para la extensión y el aprendizaje de las técnicas moleculares. Debido a que el laboratorio de biología molecular se encuentra en una fase de desarrollo inicial, este trabajo se enfocó en establecer los requisitos necesarios que den vía libre a la implementación de técnicas moleculares, como documentos y protocolos necesarios para generar investigación y transmitir conocimiento académico que refuerce y profundice la parte teórica proporcionada en clases de la asignatura de biología molecular.

Introducción

El desarrollo tecnológico enfocado a la producción animal ha permitido establecer precedentes que antes se creían poco probables, generando cambios sociales y económicos que conducen a mejorar la calidad de vida y de seguridad de animales y seres humanos (Laboratorio de genética molecular (CENLAC); Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria(CENSA), 2011). Con este progreso los procesos de investigaciones que usan técnicas moleculares, han logrado diferentes avances en el estudio de la composición genética de caracteres heredables y de interés económico en animales de importancia zootécnico (Galíndez). Es por ello que el principio fundamental del laboratorio de biología molecular en la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña es transmitir el conocimiento académico y científico de la conformación genómica de las especies pecuarias, por medio del uso de técnicas moleculares como la extracción del ADN, pasando por la visualización y amplificación del mismo, entre otras. Por tanto el laboratorio en su estructura requiere de materiales, reactivos y equipos, que posibiliten llevar a cabo los protocolos para el proceso de muestras genéticas y el desarrollo de técnicas moleculares con las que se pueda identificar y amplificar regiones genómicas de interés; con el fin de ejecutar estudios genómicos que sean reproducibles, confiables y sirvan de apoyo a la producción pecuaria, ya sea en la selección de animales con caracteres productivos de interés económico o en investigaciones con las que se puedan conocer factores genéticos relevantes de las especies de importancia para el conocimiento académico, generando otro tipo de oportunidades de participación a la comunidad estudiantil interesada en hacer parte de procesos de investigación por medio técnicas moleculares.

Capítulo 1. Desarrollo e implementación de protocolos y guías en el laboratorio de biología molecular de la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña para el estudio genómico de especies pecuarias

1.1 Descripción breve de la empresa

Bajo el acuerdo No. 003 del 18 de Julio de 1974, por parte del Consejo Superior de la Universidad Francisco de Paula Santander Cúcuta, se crea la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña como máxima expresión cultural y patrimonio de la región; como una entidad de carácter oficial seccional, con autonomía administrativa y patrimonio independiente, adscrito al Ministerio de Educación Nacional. La universidad cuenta con 27 hectáreas cedidas por la Hacienda El Rhin y la antigua Escuela de Agricultura de Ocaña, en comodato por 50 años, esto permitió la creación del programa de Tecnología en Producción Agropecuaria, aprobado por el Consejo Superior mediante el Acuerdo No. 024 del 21 de agosto de 1980, al año siguiente el 17 de febrero el ICFES otorgó la licencia de funcionamiento. Luego se crea la Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente, según el acuerdo 084 del 11 de septiembre de 1995, conformada por los departamentos de Ciencias Agrícolas y del Ambiente y el departamento Ciencias Pecuarias junto a los programas académicos de Tecnología Agropecuaria bajo el acuerdo Nº 024 del 21 de agosto de 1980 y hoy en día con el programa de Zootecnia según el acuerdo Nº Nº057 y 058 del 27 de junio de 2007 (UFPSO). Actualmente la carrera cuenta con una granja experimental y laboratorios encargados de prestar apoyo para complementar los conocimientos adquiridos por el estudiante, dentro de los cuales están los laboratorios de Nutrición, Anatomía, Suelos agrícolas, de Aguas, Inseminación, Cárnicos y Lácteos, Ictiología, y Vivero.

1.1.1 Misión.

La Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña, institución pública de educación superior, es una comunidad de aprendizaje y autoevaluación en mejoramiento continuo, comprometida con la formación de profesionales idóneos en las áreas del conocimiento, a través de estrategias pedagógicas innovadoras y el uso de las tecnologías; contribuyendo al desarrollo nacional e internacional con pertinencia y responsabilidad social (UFPSO).

1.1.2 Visión.

La Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña para el 2019, será reconocida por su excelencia académica, cobertura y calidad, a través de la investigación como eje transversal de la formación y el uso permanente de plataformas de aprendizaje; soportada mediante su capacidad de gestión, la sostenibilidad institucional, el bienestar de su comunidad académica, el desarrollo físico y tecnológico, la innovación y la generación de conocimiento, bajo un marco de responsabilidad social y ambiental hacia la proyección nacional e internacional (UFPSO).

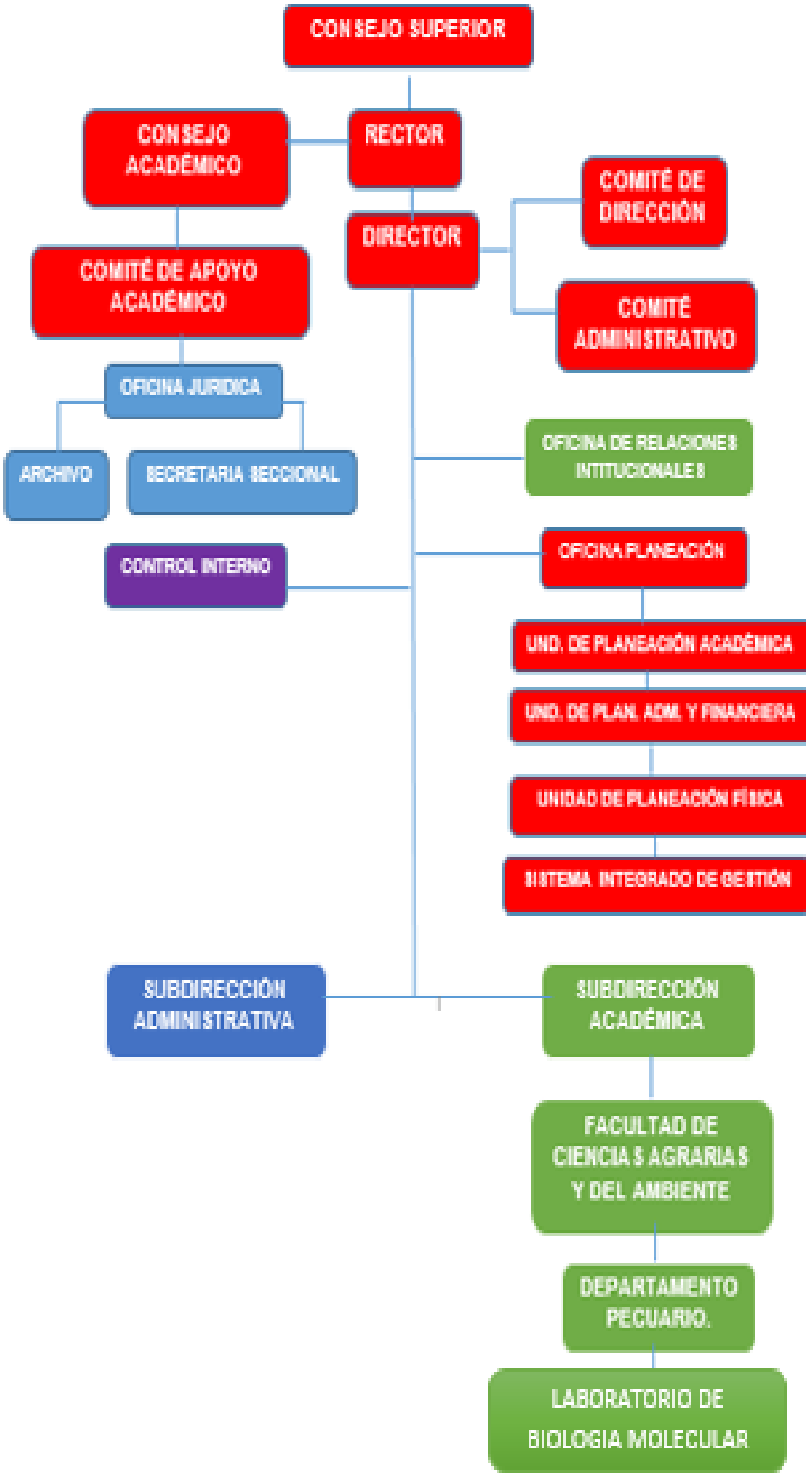
1.1.3 Objetivo de la empresa.

- Investigación y formación académica.
- Desarrollo físico y tecnológico.
- Impacto y proyección social.
- Visibilidad nacional e internacional.
- Bienestar institucional.

- Sostenibilidad administrativa y financiera.

1.1.4 Descripción de la estructura organizacional.

Según Acuerdo No. 084 de septiembre 11 de 1995, el Consejo Superior Universitario, con base en las atribuciones legales y estatutarias que le confieren la ley 30 de 1992 y el Acuerdo No.029 del 12 de abril de 1994, aprueba la estructura orgánica de la Universidad Francisco de Paula Santander Seccional Ocaña (UFPSO). El cual se ilustra a continuación:



Nota Fuente: https://ufpso.edu.co/Estructura

1.1.5 Descripción de la dependencia a la que fue asignado.

La facultad de ciencias agrarias y del ambiente de la Universidad Francisco de Paula Santander sede Ocaña, se encuentra en proceso de establecer el laboratorio de biología molecular, que tiene como objetivo cumplir las funciones de apoyo a la docencia, investigación y extensión en técnicas de biología molecular a docentes, investigadores y estudiantes de la universidad. Además, cuenta con algunos materiales, equipos y reactivos necesarios para la realización de prácticas básicas en la asignatura de biología molecular para estudios genómicos.

1.2 Diagnóstico inicial de la dependencia asignada.

	FORTALEZAS.	**DEBILIDADES.**
DIAGNÓSTICO INICIAL DE LA DEPENDENCIA ASIGNADA.	Inventario de materiales, reactivos y equipos para realizar procesos en biología molecular. División física. Asesoría disponible para los estudiantes.	Poco espacio. No hay señalización por procesos. Pocos recursos físicos (sillas, estantes, etc). No existen manuales de bioseguridad y reglamento interno.

OPORTUNIDADES	ESTRATEGIAS FO	ESTRATEGIAS DO
Instauración de laboratorio. Generar investigación. Adquirir conocimientos.	Con las herramientas de trabajo que se cuentan se puede hacer seguimiento continuo a las diferentes etapas de trabajo que resulten en investigaciones. Contando con las instalaciones del laboratorio de biología molecular dentro de la universidad, se evita el desplazamiento de estudiantes a otras universidades para realizar prácticas o trabajo de interés académico. Teniendo en cuenta las instalaciones del laboratorio se puede involucrar a la universidad en un campo moderno y poco explotado de la ciencia como lo es la biología molecular dentro de la región.	Solicitar al departamento de planeación de la UFPSO elementos de trabajo que garanticen un ambiente seguro y confortable para las prácticas de laboratorio de biología molecular. Clasificar las diferentes áreas de trabajo del laboratorio para evitar contaminación cruzada, accidentes laborales y alteración de los resultados de las investigaciones y prácticas que se lleven a cabo. Aprovechar el área destinada a la biología molecular para poner en práctica las técnicas aplicables al estudio genómico de especies de producción.

AMENAZAS	ESTRATEGIA FA	ESTRATEGIAS DA
Ausencia de protocolos. Poca capacidad para desarrollar procedimientos desde el punto de vista de la biología molecular en especies pecuarias de la Universidad Francisco De Paula Santander Ocaña, en comparación con otras universidades. Estudiantes poco capacitados en las técnicas de biología molecular.	Con una conveniente direccionalidad se puede lograr establecer protocolos de las técnicas de biología molecular. Con el trabajo eficiente del personal encargado se transmitirán a los estudiantes los conocimientos para un desarrollo óptimo de las técnicas que estudian el genoma de especies de interés zootécnico. Reconocimiento para la UFPSO por la implementación de técnicas en biología molecular para la investigación de especies pecuarias en la región.	Favoreciéndose del espacio dedicado a la biología molecular se deberán poner en orden registros y documentos para su correcto funcionamiento, así como el establecimiento (o estandarización) de protocolos para el desarrollo de técnicas que estudien la información genómica. Se deben hacer las correcciones físicas pertinentes al área para brindarle a la comunidad estudiantil y profesional un espacio apropiado para el desarrollo de las técnicas de biología molecular.

1.2.1 Planteamiento del problema.

Desde hace 40 años se han venido desarrollando proyectos específicos de interés genético y molecular, en áreas básicas de la producción pecuaria como la sanidad y seguridad alimentaria, la reproducción y el mejoramiento genético, contribuyendo notablemente las biotecnologías

ganaderas al incremento de la productividad sobre todo en países desarrollados, lo que permite mitigar la pobreza y confrontar el hambre, reduciendo las amenazas provocadas por las enfermedades y logrando la sostenibilidad ambiental en los países en desarrollo (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), 2016).

Actualmente son pocos los centros de educación superior en Latinoamérica que introducen la biología molecular en programas de selección y mejoramiento genético pecuario, una de ellas es la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña, que aún no ha incursionado en la implementación de herramientas moleculares con enfoque a la producción animal.

Con el propósito de progresar en este importante aspecto y estar a la vanguardia de todos los avances investigativos en los que se rige el mundo actualmente, la universidad ha destinado un área para la investigación pecuaria en biología molecular y, para su apropiado funcionamiento esta depende del establecimiento de protocolos y procesos para el correcto diagnóstico y evaluación molecular de muestras de animales de interés zootécnico para su posterior análisis, aprovechando esta área para incluir a la universidad en el progreso de la ciencia, innovación y tecnología de la región.

1.3 Objetivos de la pasantía

1.3.1 Objetivo general.

Desarrollar protocolos y guías para el funcionamiento del laboratorio de biología molecular para el estudio genómico de especies pecuarias en la Universidad Francisco De Paula Santander Ocaña.

1.3.2 Objetivos específicos.

Implementar formatos de obligatorio seguimiento para el desarrollo de las técnicas y adecuado funcionamiento del laboratorio de biología molecular.

Elaborar protocolos aplicados al estudio molecular que permitan el análisis y caracterización genómica de diversos factores de interés pecuario.

Apoyar al desarrollo de prácticas de laboratorio del curso de biología molecular.

1.4 Descripción de las actividades a desarrollar en la misma.

Objetivo general.	Objetivos específicos	Actividades a desarrollar en la empresa para hacer posible el cumplimiento de los objetivos Específicos.
Establecer el funcionamiento del laboratorio de biología molecular para el estudio genómico de especies pecuarias en la Universidad Francisco De Paula Santander Ocaña.	Implementar formatos de carácter obligatorio para el desarrollo de las técnicas y adecuado funcionamiento del laboratorio de biología molecular.	Realizar formatos de: Ingreso de personal. Registro de usabilidad de equipos. Inventario y fichas de seguridad de reactivos. Manuales de procedimiento para el correcto Uso de equipos. Normas de bioseguridad. Reglamento interno del laboratorio de biología molecular de la UFPSO.
	Establecer protocolos aplicados al estudio molecular que permitan el análisis y	Revisión de literatura. Análisis de protocolos. Redacción de protocolos a estandarizar.

	caracterización genómica de diversos factores de interés pecuario.	
	Apoyar al desarrollo de prácticas de laboratorio del curso de biología molecular	Organización del material para las prácticas de laboratorio. Apoyo durante las prácticas de laboratorio.

Capítulo 2. Marco Referencial

2.1 Marco Histórico

La labor que se ha realizado en el campo de la biología molecular ha sido notable en acorde con el arduo trabajo de muchos autores, que han permitido el desarrollo de técnicas moleculares, las cuales hoy en día consienten innumerables investigaciones aplicadas al campo agropecuario.

Los trabajos en el área de la biología molecular se remontan hacia 1869 cuando Johann Friedrich Miescher, identificó un nuevo grupo de sustancias en el núcleo celular a las que denomino ¨nucleicos¨, desarrollando una de las mayores revoluciones científicas que cambiaría la manera de entender los fundamentos de la vida (Dahm, 2008), luego en 1888 Albrecht Kossel demostró que esta nucleína previamente identificada contenía proteínas y que la parte no proteica de esta, contenía sustancias básicas ricas en nitrógeno identificando las bases nitrogenadas. En 1909 Levene demostró que la pentosa en la nucleína de levadura era ribosa y que la pentosa aislada del timo era desoxirribosa. Hacia 1913 Alfred Henry Sturtevant sugiere que la información obtenida de los cruces experimentales de Morgan es útil para determinar la ubicación real de los genes, elaborando el primer mapa genético del cromosoma x de la Drosophila melanogaster (Raven & Jhonson), posteriormente en 1928 Frederick Griffith investigando la enfermedad del momento en la zona: la neumonía, trabaja con ratones siendo capaz de inducir la transformación de una cepa no patogénica -*Streptococcus pneumoniae*- en patogénica, postulando así la existencia de un factor de transformación como responsable de este fenómeno, a este experimento le siguen Oswald Theodore Avery, Colin MacLeod y Maclyn

McCarty 16 años después, en 1944, demostraron que las cepas avirulentas de Griffith se transformaban en virulentas con la exposición al ADN, pero no a las proteínas. En base a esto "habían encontrado la base de la herencia (Fallos & Lopez, 2013). En relación a que los problemas biológicos eran prácticamente inaccesibles, muchos físicos se interesaron en ellos, lo cual fue determinante para el desarrollo de la biología molecular y hacia 1945 Astbury trabajando desde el punto de vista estructural de las moléculas, consiguió ser el primer científico en denominarse «biólogo molecular». Este nombramiento marca el nacimiento de la biología molecular como área de conocimiento independiente. A comienzos de los años treinta, el bioquímico James Batcheller Sumner había demostrado que era posible cristalizar proteínas. Pero este trabajo fue irrelevante hasta que John Howard Northrop obtuvo los primeros cristales de enzimas y en 1951 los físicos Linus Carl Pauling y Robert B. Corey descubren la estructura de la hélice de las proteínas por medio de análisis con difracción de rayos X.

A continuación viene un periodo clave en el descubrimiento de la conformación estructural y funcionamiento del ácido desoxirribonucleico, empezando en 1950 con Erwin Chargaff quien descubre las leyes de complementariedad de bases de los ácidos nucleicos (Claros, Aproximación histórica a la biología molecular., 2003), estableciendo la "Regla de Chargaff" (Fallos & Lopez, 2013). Hacia 1952 Alfred D. Hershey y Martha Chase conociendo algunos aspectos estructurales del ADN de un fago, agregaron al ADN Fósforo-32 radioactivo y a las proteínas Azufre-35 radioactivo para diferenciarlos, concluyendo que el ADN era quien portaba la información genética del fago. De esta manera se sentaron las bases para el desarrollo de nuevas áreas de investigación como la biología molecular y la biotecnología (ArgenBio).

A mediados del siglo XX, conociendo la naturaleza química del material genético, la investigación mecanicista empieza a decaer, ya que se prefiere explicar los procesos biológicos in vivo, tomando mayor importancia la biología molecular y la genética molecular. Se comienza a indagar sobre la naturaleza molecular del gen y el papel de los genes en el crecimiento, el desarrollo y la fisiología de los microorganismos. Rosalind Elsie Franklin abrió una línea de investigación en el laboratorio de sir John Turton Randall en el King's College, sobre el estudio de la estructura del ADN mediante difracción de rayos X, encontrando que el ADN podía hallarse en dos formas helicoidales distintas con los fosfatos hacia el exterior. Rosalind siguió trabajando con la colaboración de Maurice Wilkins y mediante la difracción de rayos X revelaron la forma de doble hélice del ADN, lo que orientó posteriormente a la descripción del modelo de doble hélice propuesto por James Dewey Watson y Francis Harry Compton Crick. La elucidación de la estructura del ADN es uno de los descubrimientos esenciales para la biología molecular; particularmente Francis Crick propuso la existencia de la tautomería y la replicación semiconservativa del ADN y además concluyó que para que el ARN sintetice proteínas debe existir una molécula acopladora de los aminoácidos a la secuencia de ácidos nucleicos, lo que posteriormente fue denominado por otros científicos como ARN de transferencia (Claros, 2003).

Secuencialmente siguen algunos descubrimientos que desencadenan el desarrollo de técnicas moleculares, de gran utilidad en la actualidad. Algunos de estos descubrimientos fueron los sistemas de restricción en base a los resultados de las interacciones entre fagos y bacterias hospedadoras en la infección viral que llevaron al descubrimiento de las enzimas de restricción, en 1952 por Luria y Weigle (Sánchez de Rivas, 2014). Luego Severo Ochoa y Marianne Grumberg-Manago en la New York University, descubrieron el mecanismo de síntesis de ADN y

ARN y la polinucleótido fosforilasa la cual sirvió para sintetizar oligorribonucleótidos con los que otros autores descifraron el código genético. En este mismo año Crick propuso el dogma central de la Biología Molecular: «el ADN dirige su propia replicación y su transcripción para formar ARN complementario a su secuencia; el ARN es traducido a aminoácidos para formar una proteína» y diez años después Crick, Watson y Wilkins reciben el premio nobel por describir el modelo de doble hélice del ADN (Durantes, 2015).

En 1960 Stewart Linn y Werner Arber en Ginebra, descubren los sistemas de restricción de las bacterias y en el 61 Howard Dintzis descubre que el ARNm se traduce en sentido 5’ a 3’, y que las proteínas se sintetizan desde el extremo amino al carboxilo; este descubrimiento establece que la ordenación del ADN siempre sea desde el extremo 5’ al 3’.

Ya con un conocimiento pleno de la estructura e interacción del ADN, proteínas y ARN, a comienzos de los setenta se toma la iniciativa de explicar los problemas biológicos desde un punto de vista molecular por medio de técnicas, un ejemplo es el trabajo realizado por Temin y David Baltimore, que demostraron que la copia de ARN en ADN durante la infección de algunos virus, se debía a una actividad catalítica que denominaron transcriptasa inversa o «retrotranscriptasa». Para el año de 1972 nace la ingeniería genética y diversos científicos como Janet Mertz y Ron Davis empiezan a experimentar cortando y uniendo segmentos de ADN por medio de enzimas para realizar distintas combinaciones, lo que se denomina como ADN recombinante. En 1973 S. Cohen y A. Chang demuestran que el ADN recombinante puede ser replicado y mantenido en la bacteria E. coli, luego Edward M. Southern desarrolla en Edimburgo la hibridación de ácidos nucleicos y catapulta la técnica de "Southern Blotting" al éxito, ya que

esta permite reconocer la ubicación del segmento de ADN con el que se esté trabajando dentro del genoma antes de que sea fragmentado, prueba que se aplicaría a la secuenciación del genoma humano (Fallos & Lopez, 2013). Entre 1949 y 1955 Fred Sanger público la secuencia completa de aminoácidos que conforman la insulina (García Sancho, 2014), en 1977 desarrolló una técnica para leer el ADN, nucleótido por nucleótido o base por base, dos años después presentó la secuencia completa de un pequeño genoma del fago φX174. De esta manera nace la secuenciación del ADN, técnica que inicialmente requería el uso de sondas radiactivas y arduo trabajo (Claros, 2003). Aunque el método de Sanger sentó las bases para los primeros equipos de secuenciación automáticos que ya permitían leer miles de pares de base en algunas horas fue Hood y colaboradores hacia los años 80 quienes automatizaron el proceso tanto para ácidos nucleicos como para proteínas (Muñoz, 2009). A partir de este momento no basta con clonar los genes, sino que también hay que secuenciarlos y ya es imparable la cantidad de trabajos y descubrimientos postulados y es cuando, en 1978 Yuet Wai Kan y Andree-Marie Dozy desarrollan la técnica de polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP), en 1980 Martin Cline consigue el primer ratón transgénico y en el 81 Sidney Altman describe el primer ARN con actividad catalítica (ribozima): la RNasa P. En 1983 Kary Banks Mullis revoluciona la investigación en biología molecular describiendo la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). En 1984 Charles Cantor y David Schwartz desarrollan la electroforesis en campo pulsante para separar moléculas de ADN de alto peso molecular, esto supuso el mayor avance en las electroforesis desde que Arne Wilhelm Kaurin Tiselius desarrollara en 1937 la primera electroforesis. En 1987 Maynard Olson construye los YAC (cromosomas artificiales de levaduras) para clonar grandes fragmentos de ADN. Con estas herramientas se inicia el Proyecto del genoma humano de la mano de James Watson y el Proyecto genoma de levadura con la belga

André Goffeau, produciéndose cantidades de logros a partir de este momento, como el lanzamiento en 1990 del Proyecto Genoma Humano (Claros, 2003).

2.2 Marco Contextual

La Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña se ha esforzado por apuntarle a mantener un sistema integrado de gestión para dirigir y evaluar el desempeño institucional orientado al mejoramiento de los servicios que se ofrecen al estudiante y a la sociedad, en conformidad con lo establecido en el decreto 1599 de 2005 por el cual se adopta el Modelo Estándar de Control Interno para el Estado Colombiano, la ley 872 de 2003 por la cual se crea el Sistema de Gestión de la Calidad y el decreto 4110 de 2004 por medio de la cual se adopta la NTCGP 1000; en función de estas normas se logra evaluar el desempeño institucional en cuanto a calidad y prestación de servicios con miras a mejorar y reforzar cada vez más el conocimiento tecnológico (UFPSO) de los procesos institucionales de acuerdo a las necesidades y expectativas de la comunidad universitaria, definidas en el Acuerdo No.029 del 12 de abril de 1994 que se refieren a la orientación, planeación, organización y supervisión de las actividades docentes, investigativas y de extensión que realizan las facultades académicas y, que lleven a consolidar la capacidad investigativa y de extensión (UFPSO), ofreciendo espacios de formación comunitaria que permitan a los estudiantes enriquecer sus conocimientos pedagógicos y científico-investigativos con los que se logren capacitar como profesionales competitivos y vigentes en un área determinada.

2.3 Marco Teórico

Debido a los avances de la biología molecular a través de los años, se ha permitido realizar trabajos de investigación que repercuten de forma positiva en el diagnóstico de enfermedades y

plagas que suelen presentarse en las especies agropecuarias y que inciden notablemente en la rentabilidad, nivel de producción y bienestar de los especímenes con que se trabajan, estas técnicas recientemente han sobresalido en la caracterización de factores de interés productivo y económico de los diferentes sistemas de producción y, con su uso han permitido darle un valor agregado a los productos obtenidos en el campo garantizando la trazabilidad de estos, rasgos determinantes hoy en día en el mercado global, así como en los programas de investigación, caracterización y conservación animal donde las herramientas implementadas en la biología molecular son uno de los pilares fundamentales.

A continuación se presentan algunas investigaciones desarrolladas en el sector agrario que involucran técnicas aplicadas en la biología molecular, como ejemplo se menciona el estudio reportado por Niedman y Meza en el 2006, que realizaron el aislamiento y caracterización de nuevas cepas de *Bacillus thuringiensis* en los suelos agrícolas de un sector de Chile y su evaluación respecto a la acción insecticida contra la larva de la polilla del tomate, Tuta absoluta Meyrick. La metodología del trabajo se desarrolló mediante técnicas de biología molecular como: la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar las secuencias específicas de ADN, electroforesis analítica de proteína según el procedimiento descrito por Laemmli (1970), análisis de Western y bioensayos contra larvas de T. absoluta. Para la extracción de ADN se basaron en el protocolo descrito por Cerón (1994). Este estudio logró determinar que desde el punto de vista molecular y serológico, es posible concluir la existencia de una correlación entre el contenido génico y la naturaleza de las proteínas sintetizadas, las cuales se caracterizaron por su actividad insecticida sobre la larva de la polilla del tomate *Tuta absoluta* (Niedmann Lolas & Meza Basso, 2006).

De igual manera Díaz, Dalla, Vásquez y Castro en el 2006, hicieron un análisis cualitativo y cuantitativo para determinar la calidad de las proteínas del gluten en cultivos de trigo, caracterizando 14 subunidades de gluteninas de alto peso molecular (G-APM) correspondientes a 10 combinaciones alélicas, el análisis realizado fue solamente cualitativo por medio de electroforesis de proteínas según el protocolo descrito por Laemmli (1970). Los patrones electroforéticos obtenidos se determinaron por comparación, usando variedades de patrones conocidos, siguiendo la nomenclatura reportada por Payne et al. logrando determinar las combinaciones alélicas que le proporcionan más fuerza al gluten, las cuales repercuten en la calidad y cantidad de las proteínas (Díaz Dellavalle, Dalla Rizza, Vázquez, & Castro, 2006). También Alem y otros en 2011 caracterizaron molecularmente 15 individuos de cuatro cultivares de *Lotus corniculatus* en Santiago de Chile, utilizando marcadores microsatélites transferibles previamente identificables en una especie relacionada. Para el desarrollo de este trabajo de investigación se hizo la extracción del ADN genómico según al protocolo de Doyle and Doyle (1987), se hizo una PCR con temperaturas y ciclos de acuerdo a la especificidad de los primers usados y una posterior electroforesis en geles de poliacrilamida, que fueron visualizadas por el método de tinción de plata (Tixier *et al,* 1997), basados en la intensidad de tinción de cada banda. Con el desarrollo de este trabajo se comprobó una alta variabilidad entre individuos del mismo cultivar, gracias al empleo de marcadores microsatélites de mucha utilidad en la diferenciación de individuos a un bajo costo y programas de mejoramiento (Alem, Narancio, Díaz Dellavalle, Rebuffo, Zarza, & Dalla Rizza, 2011).

Por otra parte, los trabajos de investigación que involucran el manejo y desarrollo de técnicas moleculares son amplios también en el sector pecuario, y algunos de estos se mencionan a continuación:

Ferrer, Lares, Viettri, & Medina en el 2012, compararon la eficacia del diagnóstico de la enfermedad de Chagas producida por el parásito *Trypanosoma cruzi,* mediante técnicas inmunológicas frente a técnicas moleculares en fases aguda y crónicas de la enfermedad. Para desarrollar el diagnóstico molecular, se trabajó con extracción de ADN por método comercial con resina Chelex, seguido de un ensayó con PCR para la amplificación y detección del ADN de minicírculo de cinetoplasto por el protocolo de Wincker *et al*., para la detección del ADN satélite de T. cruzi se hizo a través del protocolo de PCR descrito por Moser *et al*., ambos con iguales modificaciones en sus reacciones. Posteriormente se hizo la separación del material genético en geles de agarosa, los cuales se tiñeron con bromuro de etidio para que las bandas sean visualizadas a través de luz UV. A partir del desarrollo de estos protocolos se comprobó que las técnicas moleculares son más sensibles en alrededor de un 10 % frente a las inmunológicas en la fase aguda, mientras que en la fase crónica son más eficaces los ensayos inmunológicos (Ferrer, Lares, Viettri, & Medina, 2012).

En este mismo parásito López y otros en 2014, compararon dos protocolos de extracción de ADN que permitan amplificar el ADN de minicírculos de kinetoplasto (ADNk) provenientes de cultivos axénicos. Para el desarrollo de este trabajo se tomó en cuenta un primer método para la extracción de ADN con solventes orgánicos fenol/cloroformo según Sambrook y Russell 2001 y un segundo método empleando resina (Chelex®100) según instrucciones del fabricante, luego

se procedió a la amplificación del ADNk mediante el protocolo de Wincker *et al*., con ciertas modificaciones. Posteriormente se usó la espectrometría para determinar la concentración y pureza del ADN según los métodos descritos por Sambrook y Russell a partir de la absorbancia, mientras que la integridad se evaluó mediante electroforesis en geles de agarosa, que fueron teñidos con bromuro de etidio y las bandas visualizadas con el sistema Gel Doc 1000. De este trabajo se deduce que aunque la extracción de ADN con la resina Chelex®100 obtuvo un mayor rendimiento, la pureza e integridad no fue la mejor en comparación con la extracción con solventes orgánicos, sin embargo permitió la amplificación con éxito de ADNk por PCR, evitando el uso de técnicas laboriosas y solventes orgánicos tóxicos (López, y otros, 2014).

También se han elaborado trabajos que permiten estandarizar protocolos, tal es el caso de González, Rodríguez, Torres, O´callaghan, & Rosa de Jesús en la Universidad de Los Andes en 2011, que lograron establecer un protocolo para la extracción de ADN genómico de una manera rápida y económica utilizando enzima Bromelina a partir de fragmentos de la oreja de ratón y rata, demostrando buenos resultados de integridad de las muestras después de un año de almacenamiento a 4°C. Para lograr este objetivo los fragmentos pasaron por procesos de extracción con solventes orgánicos y enzima Bromelina, periodos de incubación, centrifugación y reprecipitación del ADN, estandarizando el método propuesto por Truett y col., quienes simplifican el lisado del tejido en un medio alcalino y lo neutralizan con un buffer adecuado trabajando con volúmenes y no con concentraciones de ADN. Finalmente se estimó por espectrometría la concentración del ADN genómico obtenido midiendo la absorbancia y su integridad, que también fue evaluada por electroforesis en geles de agarosa. Después de cierto tiempo el ADN almacenado pasa nuevamente por un proceso de amplificación, obteniéndose

resultados consistentes y nítidos, por lo que se concluyó que esta enzima puede reemplazar perfectamente a la proteinasa K, en los métodos de extracción de ADN de tejido de ratones y ratas, ya que aparte de ser eficiente es fácil de conseguir y es económica lo que la hace accesible para cualquier laboratorio de investigación (González, Rodríguez, Torres, O´callaghan, & Rosa de Jesús, 2011).

Autores como Hernández Herrera y otros se interesan mas por el diagnostico de enfermedades utilizando tecnicas moleculares, en el 2011 detectan el virus de la leucosis bovina en ganado criollo colombiano mediante PCR anidada. Para el desarrollo de este trabajo se realizó la siguiente metodología: se extrajo ADN de muestras sanguinas por el método de Salting Out (Miller et ál., 1988), se amplifico una región altamente conservada del gen mediante la técnica PCR anidada (Beier et ál). Las amplificaciones se llevaron a cabo en un termociclador bajo las condiciones térmicas y numero de ciclos de acuerdo a los cebadores utilizados y se visualizaron en geles de agarosa al 1.2% teñidos con bromuro de etidio. Se concluye de este trabajo que es necesario continuar con estudios que involucren estas técnicas moleculares por su alta sensibilidad, en los cuales además se evalúen las condiciones de manejo de los animales y se relacione la presencia del virus con los síntomas de la enfermedad y los marcadores genéticos de resistencia a esta (Hernández-Herrera, Benavides, Giovambattista, Posso Terranova, Muños Florez , & Álvarez, 2011). En 2014 Hernández, Muñoz y Álvarez, siguen profundizando en sus estudios sobre el virus de la leucosis bovina (VLB) en el ganado criollo colombiano con algunas variaciones, una de ellas es que a la muestra de estudio se le suman dos razas foraneas (Brahman Y Holstein), el curso de esta nueva investigacion va dirigido a establecer la asociación del locus BOLA-DRB3.2 con VLB, evaluando la presencia del virus por detección de provirus y PCR

anidada, los polimorfismos del gen BoLA-DRB3.2 por PCR semianidada - polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) y la asociación entre ambos (OR) - por lo cual en la metodología se requiere la aplicación de la técnica PCR-anidada para detectar animales infectados con el VLB mediante la detección del provirus amplificando una región altamente conservada del gen viral, con las especificaciones del caso para el uso de oligonucleótidos, los perfiles térmicos y numero de ciclos de acuerdo a los primers utilizados. Los alelos del gen BoLA-DRB3.2 se determinaron por PCR-RFLP descrita por Hernández et al. (2013), realizando una PCR de dos pasos (semi-anidado). El producto de la segunda PCR se utilizó como sustrato para la técnica de la RFLP. Posteriormente se hizo una electroforesis, tinción con bromuro de etidio y visualización en cámara SUB-CELL® GT. Para su posterior análisis estadístico, encontrándose que el ganado criollo colombiano posee genes de resistencia al VLB (Hernández H, Muñoz F, & Álvarez F, 2014).

Diferentes investigadores han hecho uso de marcadores moleculares en otras especies, algunos de estos son Camacho, Arechavaleta, Braña, & Ramírez en los estados de Sonora, Jalisco, Guanajuato, Queretaro, Puebla, Veracruz y Campeche de México en 2013, quienes genotipificaron cerdos con marcadores asociados a la calidad de la carne para el gen halotano RYR1 y el gen de rendimiento napole o PRKAG3. Para este proceso se llevó a cabo la extracción de ADN partir de muestras sanguíneas con solventes orgánicos fenol/cloroformo. Para hacer la detección de las variedades alélicas que presentan los genes RYR1 y PRKAG3 e identificar animales con los genotipos deseables se utilizó la técnica PCR-RFLP. Primero se hizo una PCR a temperatura y número de ciclos correspondientes a los primers usados, el producto de la PCR del gen RYR1, un fragmento de ADN de 134 pares de bases (pb) y se sometió a la

enzima Hha I para llevar a cabo la restricción enzimática. Los fragmentos obtenidos se visualizaron por electroforesis en geles de agarosa al 4% y se tiñeron con bromuro de etidio para ser visualizados por luz UV. Para genotipificar el gen PRKAG3 también se hizo una PCR, un fragmento de ADN de 114 pb que incluyen los codones 199 y 200 del gen, se cortó con las enzimas de restricción BsaH I y BsrB I correspondiente a cada codón y se continuó con el mismo proceso consecuente para el primer gen. Este tipo de trabajos es de gran importancia aplicativa en las explotaciones porcinas, ya que la presencia del gen RYR 1 y PRKAG3 afectan directamente la producción en términos de calidad de la canal y al rendimiento tecnológico de la carne y por tanto a la rentabilidad de la producción (Camacho Rea, Arechavaleta Velasco, Braña Varela, & Ramírez Ramírez , 2013).

Del mismo modo, los microsatélites fueron utilizados como marcadores con alto grado de polimorfismo distribuidos a lo largo del genoma, por Ríos y otros para construir el mapa de ligamiento del cromosoma 3 de una población ovino de pelo criollo perteneciente a la sede Motilonia de CORPOICA. Estos microsatelites permiten graficar la posición de los genes o marcadores dentro de un grupo de ligamiento, para ello se evaluaron ocho microsátelites: BM2830, BM315, IGF1, Texan15, BMS6433, LYZ, BMC1009, OarCP43-F mediante geles desnaturalizantes de poliacrilamida, de estos microsatelites cuatro arrojaron información útil para fijar el orden de un mapa de ligamiento. La certeza en la ubicación del orden de los marcadores a lo largo del mapa es importante para determinar la ubicación de los genes responsables para características de importancia económica en producción animal (Ríos Rodríguez, Castro Molina, Ariza Botero, Rodríguez, Rodríguez Mojica, & Castro Rincón).

Los marcadores moleculares más alla de sus usos en la deteccion de genes que repercuten en factores de interes productivos, son utilies para establecer la diversidad genetica entre problaciones, es asi como estudios realizados por Caetano y otros en 2012 lo evidencian al evaluar la diversidad genética del *Coryphaena hippurus* (pez dorado) en el Pacífico colombiano por caracterización molecular, en este trabajo se utilizaron marcadores moleculares aleatorios (RAMs), para lograr establecer la relación entre grupo genético y el origen geográfico en C. hippurus. Para ello se hizo la extracción de ADN con poteinasa k y el kit de extracción de ADN para sangre y tejido animal DNeasy®. Para la técnica RAMs la PCR empleada utilizo cebadores (AG, CCA, CT y CGA) con condiciones de PCR distintas para cada primer, consecuentemente la cuantificación del ADN se realizó en electroforesis con concentraciones conocidas del bacteriófago Lambda. El producto amplificado de la PCR se visualizó en geles de poliacrilamida al 6% y la lectura de los geles se realizó con base a Berg y Hamrick (1997). De este estudio se determina que el porcentaje de loci polimórficos fue de 62.63%, lo que refleja la presencia de una estructura genética entre los peces dorados de las regiones del Pacífico evaluadas, a pesar su cercanía geográfica (Caetano N, Guzman, Selvaraj, Posso T., Muñoz, & Ordoñez M., 2012).

Un trabajo similar se hizo en cabras, teniendo en cuenta que las cabras criollas colombianas han adquirido características especiales por adaptación natural, mecanismos de selección y preservación de líneas genéticamente puras. Vinasco, Álvarez, & Muñoz en 2009, encontraron una alta diversidad genética y un porcentaje de loci polimorficos del 100% entre cabras criollas de las zonas de Montería, Tulúa y Palmira utilizando marcadores moleculares RAMs. El ADN necesario para desarrollar este trabajo se extrajo por el protocolo de Salting Out (Miller et al., 1998), en la PCR se utilizaron 5 cebadores microsatélites amplificados al azar

(RAMs) (AG, CA, TG, CT, CCA) con diferentes temperaturas de hibridación. Con este estudio se pudo determinar la cercanía genética entre una raza y otra, independientemente de su ubicación geográfica; la información recopilada por los marcados es importante para realizar una selección para la conservación de la diversidad genética de las especies y puede ser útil en futuros programas de mejoramiento (Vinasco, Álvarez, & Muñoz, 2009).

2.4 Marco Conceptual

El ADN contiene las instrucciones genéticas usadas en el desarrollo y funcionamiento de todos los organismos vivos. El código genético fue un misterio hasta que se descubrió la estructura y conformación del ADN, la secuencia química de las bases nitrogenadas que lo conforman (easy learn genetics, 2014) y por ende la codificación genética hasta lograr establecer los fundamentos del dogma central de la biología molecular (Albéndiz, 2011). Pero todos estos hallazgos se obtuvieron gracias al descubrimiento e implementación de innumerables técnicas que permitieron acceder al conocimiento de esta molécula. Las aplicaciones de estas técnicas son variadas incluyendo la detección de alelos de un gen normal y mutado, la identificación de cepas bacterianas o virales o de alelos favorables para una característica de interés productivo que pueda utilizarse en programas de selección y mejoramiento genético (Gen molecular). Algunas de las técnicas de uso rutinario en el laboratorio puede decirse que son, la extracción de ADN, Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), electroforesis, secuenciación, cuantificación y empleo de marcadores moleculares, las cuales se explica detalladamente a continuación.

Extracción de ADN.

La extracción del ADN se debe principalmente a su estructura de doble cadena y carga eléctrica, su esqueleto base lo conforma una pentosa (ribosa o desoxirribosa), una base nitrogenada (purina o pirimidina) y grupo fosfatos polares cargados negativamente, las bases de cadenas opuestas se unen mediante puentes de hidrógeno manteniendo estable la estructura helicoidal. Estas características estructurales son aprovechadas durante procesos de extracción, fisiológicamente ocurre que, debido a la carga y polaridad del ADN le permite unirse a moléculas y matrices inorgánicas con carga positiva, adicional a esto, los grupos fosfato tienden a repelerse debido a su carga permitiendo disolver el ADN en soluciones acuosas y formar una capa hidratante alrededor de la molécula que en presencia de etanol, se rompe dejando expuestos los grupos fosfato. Bajo estas condiciones se favorece la unión con cationes como Na+, que reducen las fuerzas repulsivas entre las cadenas de nucleótidos y permiten que el ADN precipite (Cornejo Romelio, Serrato Díaz, Rendón Aguilar , & Rocha M, 2014). El objetivo de esta técnica es contar con una muestra libre de impurezas, es decir dedritos celulares que puedan contaminarla e inducir problemas en los procesos posteriores a la extracción del ADN.

Actualmente, se encuentran en el mercado diferentes métodos de extracción que el laboratorista puede seleccionar dependiendo de la circunstancia económica y de la disponibilidad de tiempo, además de la cantidad y tipo de tejido disponible para extraer la muestra así como de su estado de conservación, la técnica que se aplicará posteriormente y la infraestructura del laboratorio donde se realizará el proceso. En seguida se mencionan algunos métodos de extracción tradicional y comercial de ADN.

Los métodos tradicionales se diferencian de los comerciales por la cantidad de pasos durante el proceso, el tiempo en que se realiza, las soluciones utilizadas y el rendimiento del ADN; sin embargo este último dependerá en gran medida de la colecta y el manejo apropiado de la muestra, es por ello que se debe considerar las exigencias propias de cada tejido y establecer protocolos acorde a ello para que su implemento sea exitoso.

Los protocolos tradicionales utilizan solventes orgánicos para separar las proteínas del ADN, lo que indica que requieren preparar soluciones. En general, los protocolos tradicionales consisten de cinco etapas principales:

1. Homogeneización del tejido, permite que se rompan las uniones entre las células facilitando la interacción con las soluciones lisis que ayudan a liberar el material genético. Esta puede ser mecánica y química.
2. Lisis celular, durante esta etapa las interacciones entre las moléculas que conforman la pared y membranas celular y nuclear se destruyen liberando los ácidos nucleicos, al entrar en contacto con soluciones básicas como detergentes o agentes caotrópicos se disuelve la membrana celular, así como inhibidores que inactivan las enzimas que degradan el ADN. Muchas soluciones de lisis contienen también EDTA (Ácido etilendiaminotetraacético), que forma un complejo con los iones de $Mg2+$ e impide el funcionamiento de las DNasas.
3. Separación de proteínas y lípidos del ADN, realizada mediante solventes orgánicos y ciclos de centrifugación. Los solventes orgánicos como el fenol, cloroformo y

alcohol isoamílico contaminan fácilmente el ADN, por lo que se debe evitar llevarlos en el proceso de purificación.

4. Precipitación del ADN, después que son eliminados los lípidos y las proteínas, se recupera el ADN adicionando etanol y soluciones con altas concentraciones de iones de sodio o amonio que se unen a los grupos fosfato, esta mezcla reduce las fuerzas repulsivas entre las cadenas y permite que el ADN se pliegue sobre sí mismo haciéndolo insoluble.

5. Redisolución del ADN, consiste en hidratar el ADN para mantenerlo en solución.

Consideraciones del método comercial.

Los kits comerciales de extracción utilizan matrices inorgánicas compactas cargadas positivamente, capaces de retener varios microgramos de ADN y separarlos del resto de las biomoléculas. Durante la extracción, el ADN cargado negativamente se une a la matriz selectiva de forma reversible durante la remoción de lípidos, proteínas y metabolitos secundarios y posteriormente la molécula se libera de la matriz.

Tanto la homogeneización como la lisis celular son similares en los protocolos tradicionales y comerciales, además de la unión y lavado que son pasos propios del método comercial. Pero estos últimos no contienen en sus procesos fenol ni cloroformo para extraer proteínas, tampoco requieren etanol para precipitar el ADN.

La mayoría de los kits comerciales tienden a ser similares en su proceso de aplicación, pero se diseñan con un propósito específico dependiendo de la muestra con que se quiera trabajar. En

los manuales proporcionados por el fabricante se detallan, además de los pasos a seguir en cada caso, la cantidad de muestra recomendada y el rendimiento esperado de acuerdo al tipo de tejido (Cornejo Romelio, Serrato Díaz, Rendón Aguilar , & Rocha M, 2014).

Reacción en cadena de la polimerasa.

La PCR es una técnica que permite la amplificación in vitro de una sección del ADN de interés y en consecución de que la muestra de trabajo originalmente solo es una, esta técnica da facilidad y practicidad de manejo ya que permite replicarla.

La aplicación de esta técnica requiere indispensablemente de un termociclador que automatiza los pasos de incremento y decremento de la temperatura y de enzimas ADN polimerasas termoestables o ADN polimerasa, las cuales indican el sitio de las longitudes de fragmentos de interés de ADN, desde el cual debe iniciarse la amplificación. Estas se agregan en forma de pequeñas secuencias de ADN llamadas oligonucleótidos que son adicionados a la reacción junto con otras soluciones (Peña Castro, Ramírez, & Barrera, 2013). Los pasos de procesamiento de la PCR lo forman tres estadios térmicos:

- Desnaturalización: la reacción se calienta a 90-94°C para romper los puentes de hidrógeno y separar la doble cadena de ADN.
- Alineamiento: disminuye la temperatura a 50 o 65°C para alinear los cebadores de oligonucleótidos con su molécula blanco. Estos cebadores son específicos y se unen a los

extremos opuestos del segmento de ADN de interés a una temperatura determinada relacionado con la longitud y la secuencia del cebador.

- Extensión: eleva la temperatura a 68-72°C para que la polimerasa termoestable busque su sustrato de doble cadena, es decir el ADN molde más el oligonucleótido en secuencia específica que sintetice la nueva hebra de ADN, utilizando a los nucleótidos libres en solución, adhiriéndose a los extremos libres de los cebadores (University of Florida) (Peña Castro, Ramírez, & Barrera, 2013).

La PCR convencional tiene múltiples variantes con aplicaciones diferentes, por ejemplo, cuando se acopla una reacción enzimática llamada retrotranscripción (RT), empleándose la enzima retrotranscriptasa con capacidad catalítica de sintetizar ADN, a partir de ARN como molde inicial, se producen ADN complementario (CADN), volviéndose la PCR un método de amplificación indirecta del ARN al realizar dos rondas de PCR (Analytical Biotech).

Existe una modalidad de PCR múltiplex que emplea dos o más pares de primers en un tubo con el fin de amplificar simultáneamente diferentes fragmentos de ADN, obteniéndose información de varios loci en una sola reacción, además requiere una menor cantidad de molde para el análisis y por tanto de reactivos, siendo esta modalidad de PCR una técnica atractiva en el diagnóstico de agentes infecciosos, que permite amplificar varios tipos virales en un solo tubo y al mismo tiempo (Greif).

La variante cualitativa y cuantitativa de PCR en tiempo real, es un método que utiliza sondas fluorogénicas combinadas con el ensayo. Esta tiene en cuenta la cantidad de ADN

formado que es proporcional a la emisión de fluorescencias producida en la reacción de amplificación. La ventaja principal de esta técnica es que permite detectar la fluoescencia directamente en un tubo cerrado evitando el riesgo de contaminación y facilita aplicaciones de manera rápida y simultánea. Sin embargo, el equipo necesario para su funcionamiento encarece el proceso (Montalvo Álvarez, 2011).

Desde hace mucho tiempo se viene implementando métodos cuantitativos y de identificación de ácidos nucleicos a partir de la hibridación en fase sólida Southern, Northern Blot y western (para proteínas) (Peña Castro, Ramírez, & Barrera, 2013). La hibridación del ADN por Southern es digerida con una enzima de restricción y separando los fragmentos por electroforesis, luego estos fragmentos son parcialmente hidrolizados con un ácido débil y desnaturalizados con NaOH e incubados con la sonda marcada radiactivamente o con fluorocromo, la cual va uniendo las moléculas de ADN de cadena sencilla de secuencia complementaria. El método de Northern Blot es básicamente idéntico al anterior, a excepción de que el ARN se separa por electroforesis en condiciones desnaturalizantes en presencia de formaldehído debido a que esta molécula monocatenaria, forma complejas estructuras secundarias que dificultan la migración. Estas técnicas se usan poco actualmente al haber sido sustituidas por técnicas derivadas como la qPCR (Fernández Ruiz) que utiliza estándares de concentración previamente conocidos o métodos de comparación relativa (Peña Castro, Ramírez, & Barrera, 2013).

También existe una modalidad de PCR combinada con la técnica de polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP), PCR – RFLP, que amplifica la región del gen que

contiene la mutación por PCR, luego digiere el fragmento que se amplifico con enzimas de restricción que detectan el sitio donde ocurre la mutación, generando fragmentos de restricción polimórficos por su longitud. Por medio de esta técnica se puede identificar variedades alélicas que presenten los genes de estudio que permiten identificar animales con genotipos deseables, en términos de calidad que influyen en factores de interés productivo (Camacho Rea, Arechavaleta Velasco, Braña Varela, & Ramírez Ramírez , 2013).

Secuenciación de ácidos nucleicos.

Es una técnica útil para determinar el orden de los compuestos que estructuran la información genética. La secuenciación de ácidos nucleicos se puede lograr químicamente al definir la secuencia nucleotídica de un ADN marcado radioactivamente en un extremo, el cual se corta parcialmente con reacciones químicas en cada una de las bases (adenina, timina, cistina, guanina) a temperatura y pH determinado, obteniéndose un set de fragmentos marcados intensamente para unas bases y tenues para otras; luego estos fragmentos se separan en geles de poliacrilamida por tamaño determinándose la secuencia de estas moléculas, sin embargo esta técnica está sujeta a la capacidad de resolución de los geles de poliacrilamida. Otro de los métodos para secuenciar ácidos nucleicos es por medio enzimático, utilizando ADN polimerasa e inhibidores que finalizan la cadena de ADN que se está sintetizando en lugares específicos, al incorporar nucleótidos que en su carbono 3´ no tiene grupo hidroxilo (dideoxinucleótido) impide que a la molécula de ADN se agregue una nueva base, finalizando la síntesis del ADN. Actualmente a este método de secuenciación se le han realizado algunas mejoras al introducir una molécula fluorescente diferente unida a cada dideoxinucleótido (Greif).

Métodos de análisis para cuantificación del ADN.

Una vez obtenido la muestra del material genético se deberá determinar su cantidad y calidad de concentración para futuros usos y esto puede hacerse por espectrofotometría, la cual indica que la concentración de una molécula en solución depende de la cantidad de luz absorbida de las moléculas disueltas, como el ADN absorbe luz ultravioleta (UV) a 260 nm cuando la longitud de la celda en que se disuelve el ADN es de 1 cm, la absorbancia es igual a la densidad óptica (DO). La concentración de ADN se representa en nanogramos/microlitro (ng/ul) y para ello debe diluirse, concentraciones con valores inferiores a 5 ng/ul dificultan la estandarización de la PCR y otras técnicas. Con algunos equipos como el espectrofotómetro Nanodrop, no es necesario diluir la muestra ya que el equipo proporciona directamente la concentración en ng/ul. La proporción de la absorbancia es determinante para estimar la pureza del ADN tomándose como referente 260/280 nm y de 260/230 nm, se estima entonces que una proporción de 1.8 y de 2.0 a 2.2 es aceptada como ADN puro, por lo que proporciones menores a estos valores indican la presencia de proteínas y de contaminantes como carbohidratos o fenol respectivamente.

Otro método analítico para determinar la integridad del ADN es la electroforesis en gel de agarosa, por la cual se visualizará una banda estrecha cercana al pozo en que se colocó la mezcla de ADN. Si la muestra está fragmentada, se observará una banda de más de un cm de ancho o un sendero luminoso en el carril de la muestra. Las muestras de ADN fragmentadas dificultan la amplificación de PCR de alto peso molecular afectando la reproducibilidad de las técnicas.

Además de los métodos anteriores, la refrigeración a 4°C para análisis inmediatos y congelación en soluciones con bajas concentraciones de sal a -20 °C o -80 °C por varios meses, inhiben la acción de DNasas contaminantes y mantienen positivamente la integridad y pureza de las muestras de ADN (Cornejo Romelio, Serrato Díaz, Rendón Aguilar , & Rocha M, 2014).

Electroforesis.

La electroforesis es un método de separación de moléculas por tamaño y forma, basado en la movilización de las biomoléculas. Durante la ejecución de la técnica estas moléculas deben estar sumergidas en una solución amortiguadora de pH que las mantenga integras las cuales son sometidas a una carga eléctrica. Las moléculas con carga negativa (como el ADN) migran hacia el polo positivo en una matriz sólida, generalmente poliacrilamida o agarosa en un aparato electroforético. La distancia que migra cada fragmento de ADN es inversamente proporcional al logaritmo de su peso molecular, pero la utilización de marcadores de tamaño conocido facilita calcular los pesos moleculares de las muestras de ADN problema (Padilla Peña, Diez Dapena, Martínez, Bárcena Ruiz, & García) (Peña Castro, Ramírez, & Barrera , 2013). Existen además diferentes tipos de cámaras electroforéticas de acuerdo a la naturaleza de la muestra a analizar.

~~E~~lectroforesis horizontal o de ácidos nucleicos.

Permite verificar síntesis o integridad de ácidos nucleicos y hacer seguimiento de los pasos enzimáticos de modificación durante la construcción de colecciones de ADN. La matriz requerida para separar ácidos nucleicos en cámaras electroforéticas horizontales es la agarosa;

además se usa la acrilamida como matriz sólida sumergida en medio líquido y como retardador del paso de ácidos nucleicos, sobre todo los de mayor tamaño, esta matriz aumenta la resolución a la escala de pares de bases y se aplica en la separación de moléculas durante la secuenciación y en la separación de moléculas de pesos moleculares similares pero con diferente composición de nucleótidos en gradientes desnaturalizantes (Peña Castro, Ramírez, & Barrera , 2013) (Universidad de Alcalá).

Electroforesis vertical o de proteínas.

Las proteínas son biomoléculas que poseen una carga muy variable porque en ellas puede haber aminoácidos cargados negativa y positivamente, por lo tanto para hacer migrar las proteínas se debe ejecutar una electroforesis 2D que las mantenga en su punto isoeléctrico, luego se trata el gel con SDS y finalmente se realiza una electroforesis 1D que separe las proteínas de acuerdo a su peso molecular (Peña Castro, Ramírez, & Barrera, 2013), esta última fue descrita por Laemmli en 1970 y se le conoce como SDS-PAGE (Polyacrylamide Gel Electrophoresis) en la cual la velocidad de migración es proporcional a la relación entre las cargas de la proteína y su masa, es decir cuanto mayor carga por unidad de masa más rápida será la migración. La SDS-PAGE es utilizada comúnmente en el seguimiento de los niveles de acumulación de proteínas, en su purificación, separación, hibridación con anticuerpos y análisis de peso molecular (Peña Castro, Ramírez, & Barrera , 2013). (Recinto universitario de Mayagüez).

Una vez extraído el ADN y realizada una PCR, se debe verificar que los ácidos nucleicos estén presentes en la muestra extraída (Gen molecular) y la electroforesis permite visualizarlos

para corroborarlo utilizando un agente de estructura plana que se intercale entre los enlaces de hidrógeno de los ácidos nucleicos, produciendo excitación al exponer el gel a luz ultravioleta emitiendo fluorescencia que permita indicar la posición de los ácidos nucleicos. Algunos de estos agentes químicos útiles en la visualización son SYBR Green, bromuro de etidio y otros (Peña Castro, Ramírez, & Barrera, 2013) (Díaz Moreno) (Baños Molina, 2005).

Marcadores moleculares.

Funcionan como radares emitiendo señales que indican la presencia cercana de un gen de interés común en algún cromosoma, refiriéndose a un rasgo determinado tipo fenotipo o bioquímico, esta señal debe ser identificable para facilitar la localización de uno o más genes que revelen cualidades como la resistencia a una determinada enfermedad, sin necesidad que se haya presentado (Pérez de la Torre).

Los marcadores son útiles en la investigación básica para análisis filogenético, diversidad y variación genética y búsqueda de genes importantes que interfieran en los factores de producción permitiendo establecer programas de selección asistida por marcadores, pruebas de paternidad y trazabilidad de los animales. Existen diferentes tipos de marcadores moleculares para cumplir estas funciones.

- Polimorfismos por restricción de la longitud de los fragmentos, (RFLP) trabajan con enzimas de restricción que cortan el ADN en sitios puntuales, se usan mancomunadamente con la PCR para detectar alelos que difieren en secuencia en un sitio de restricción específico. Su

alta tasa de mutación y naturaleza codominante hace que sean los marcadores de mayor elección para estudios de diversidad, análisis de parentesco y cartografiado de locus de un carácter cuantitativo (QTL).

- Microsatélites o SSR (Repeticiones de Secuencia Única) o STR (Repeticiones Simples en Tándem), son en un tramo de ADN de 2 a 6 pares de bases que se repiten en tándem y están dispersos por todo el genoma de los eucariotas.
- Polimorfismos por ampliación de la longitud del fragmento (AFPL), al igual que los anteriores detecta fragmentos de restricción de ADN mediante amplificación con PCR; son marcadores bialélicos dominantes, que proporcionan una vasta información relativa a la relación entre razas y especies emparentadas.
- Polimorfismos de nucleótido simple (SNP), son variaciones en nucleótidos únicos que no cambian la longitud total de la secuencia de ADN en la región. La mayoría de SNP se localizan en las regiones no codificantes (exones), sin embargo algunos introducen mutaciones en regiones codificantes (intrones) o en regiones que influyen en la expresión génica (promotores, potenciadores), produciendo cambios en la estructura o regulación de las proteínas. Estos SNP pueden detectar la variación genética funcional y suelen ser una alternativa a los microsatélites en los estudios de diversidad genética. Por ser marcadores bialélicos poseen un contenido de información bastante bajo (FAO).
- Microsatélites amplificados al azar (RAMS), son útiles para la caracterización genética de poblaciones por su alto polimorfismo, poder de discriminación y por la relación encontrada entre los agrupamientos biológicos (Caetano N, Guzman, Selvaraj, Posso T., Muñoz, & Ordoñez M., 2012).

Estas técnicas mencionadas antes son en su mayoría de uso rutinario en el desarrollo de protocolos que involucren la manipulación del ADN en el área de la biología molecular, su éxito estará siempre en función del manejo correcto, desenvolvimiento en el proceso y minucioso seguimiento paso a paso durante todas las etapas de las técnicas y procesos hasta a obtención de los resultados esperados.

2.5 Marco Legal

La Organización mundial de la salud (OIE) cuenta con expertos en las diversas facetas de las biotecnologías, que laboran en la intensificación de la actividad y elaboración de normas y directrices internacionales que garanticen sólidas investigaciones científicas, análisis de riesgo meticulosos y una coordinación internacional que prevengan un uso incontrolado de los recursos biotecnológicos (Organización Mundial de Salud Animal, 2008).

El ILAC es la autoridad máxima internacional que acredita los laboratorios, esta entidad mediante el acuerdo que entro en vigencia el 31 de enero del 2001, desarrolla a través del mundo una red de laboratorios que proporcionen resultados confiables de sus ensayos (Hernández Amado & Palacio Jordán, 2005), adoptando mediante la NTC-17025 los criterios sobre trazabilidad que deben cumplir los laboratorios y los requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración, siendo de carácter opcional la adopción de estos criterios (Martínez, 2005). Así mismo el Ministerio de Salud a través de su decreto número 1562 del 2002 reglamenta el funcionamiento de la comisión de Acreditación y Vigilancia de los Laboratorios que practican las pruebas de paternidad con marcadores genéticos de ADN y se dictan otras disposiciones. Posteriormente el Ministerio de Protección Social con el decreto 2112

del 2003, reglamenta la acreditación y certificación de los laboratorios públicos y privados que practican pruebas de paternidad o maternidad con mercados genéticos de ADN (Hernández Amado & Palacio Jordán, 2005).

Mediante la Resolución No. 249 de noviembre de 2003 con modificaciones en el 2008 (Resolución 171), se crea el Comité Nacional para el Mejoramiento de la Ganadería Colombiana para incentivar la productividad del Sector Pecuario a través del mejoramiento de las especies que la conforman.

La Ley 427 de 1998 de CC establece que "las Instituciones de Educación Superior y las Asociaciones Ganaderas deben diseñar y promover programas de investigación que propaguen el mejoramiento de razas puras, de su producción, comercialización y promoción de sus productos".

Se ha venido haciendo un trabajo arduo para la acreditación como parte del sistema de metrología, normalización, pruebas y calidad en el campo voluntario estableciendo sistemas para la evaluación y aprobación de la conformidad del servicio que le presta al laboratorio, y en el campo regulatorio por el cual el gobierno nacional aprobó productos y servicios basándose en legítimos objetivos como la salud, preservación de la vida humana, animal y vegetal también de la seguridad y la protección del medio ambiente (Martínez Correal, 2010).

La legislación nacional exige que el cumplimiento de productos o servicios se establezca de manera objetiva para así lograr un patrón organizacional, teniendo en cuenta que se habla de

requisitos específicos y esto se hace a través de los organismos de evaluación de conformidad (OEC´s) incluyendo también organismos de certificación, inspección y laboratorio (Hernández Amado & Palacio Jordán , 2005).

Capítulo 3. Informe de Cumplimiento de Trabajo

3.1 Presentación de Resultados

Para el establecimiento y correcto funcionamiento de un laboratorio, debe consultarse la normatividad que rige procedimientos de este tipo, por lo tanto es menester que todo laboratorio deba implementar un sistema de normas de bioseguridad que permitan un adecuado manejo, cuidado y desarrollo de los procedimientos, orientados bajo la norma NTC – ISO 9001 que tiene en cuenta que: "todo tipo de laboratorio donde el ensayo y calibración hacen parte de la inspección y certificación del producto, deben cumplir con requisitos generales de competencia para operar bajo un sistema de calidad, con el que logren ser técnicamente competentes y que generen resultados validos técnicamente" y con la norma NTC – ISO – IEC 17025 que en su capítulo cuatro especifica los requisitos para una gestión confiable y en el capítulo cinco notifica los requisitos para la competencia técnica del tipo de ensayos y/o calibraciones que el laboratorio realiza; todos estos basados en registros que son los que proporcionan una evidencia objetiva de un proceso y soportan el sistema de gestión de calidad (Martínez, 2005).

En base a lo mencionado, durante el tiempo de pasantía se adaptaron y elaboraron una serie de formatos iniciales que se acerca en cierto grado a los indicados en las NTC – ISO 9001 y la NTC – ISO – IEC 17025, que avala la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña en su departamento de gestión de calidad, por ser indispensables para el desarrollo de las técnicas y adecuado funcionamiento del laboratorio, estos se mencionan a continuación:

- Inventario (anexo 1) y fichas de seguridad de los productos químicos existentes dentro del laboratorio (anexo 2).
- Manuales de procedimientos de equipos (anexo3).
- Normas de bioseguridad dentro del laboratorio (en la planta física, con los equipos y protección personal durante las jornadas laborales) (anexo 4).
- Reglamento interno (anexo 5).
- Hojas de vida de cada equipo que refleje la historia de reporte de calibraciones, mantenimiento y registro de usabilidad de equipos dentro y fuera del laboratorio en calidad de préstamo (anexo 6).
- Formato de control de ingreso de personal (anexo 7).

En consecución con lo anterior y con miras a establecer la ejecución del laboratorio de biología molecular en la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña, a partir del cual se puedan generar estudios de investigación genómica en especies pecuarias de interés productivo desde el punto de vista zootécnico, se establecieron las siguientes actividades que ayudaron a que se logren los objetivos de este trabajo:

3.1.1 Recopilación, revisión y análisis de material bibliográfico.

Para el desarrollo de la actividad se tomó en cuenta diversas fuentes bibliográficas, que permitieron elaborar los documentos, manuales y protocolos pertinentes. A continuación se presentan una serie de tablas donde se relaciona el material consultado y su respectiva observación.

En la tabla 1 se relaciona las fuentes de información consultadas para el desarrollo de los protocolos de carácter académico y de investigación.

Tabla 1.

Información de apoyo para el desarrollo de protocolos y guías de laboratorio aplicados a procesos investigativos y académicos

Fuente de información.	Observación.
Manual de laboratorio Molecular Cloning tomo 1 de Michael R. Green y Joseph Sambrook.	Libro que registra gran cantidad de protocolos para el desarrollo de técnicas moleculares útiles en procesos investigativos.
Manual de prácticas de biología celular y molecular N° II de Miguel Martínez, Hugo Farias, Lourdes Ballesteros y José Abrego.	Documento en la web que describe el desarrollo de técnicas como la electroforesis.
Guías de laboratorio de métodos en biología molecular de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira de los autores Karina López y Juan Carlos Vaca.	Documento institucional para el desarrollo de prácticas de laboratorio de biología molecular, entre ellas extracción de ADN vegetal, normas de bioseguridad, uso y calibración de micropipetas, entre otras.
Área de bioquímica y biología molecular del deparatamento de biología experimental de la Universidad de Jaen, Andalucía – España.	Portal web universitario que describe el uso, recomendaciones y errores comunes en la manipulación de micropipetas.
University of UTAH Learn Genetics.	Portal de laboratorio virtual de biotecnología, en el que se detalla técnicas como la extracción del ADN.
Weaver, R. F. 2012: Molecular Biology.	Conceptos sobre extraccion de ADN.
ArgenBio.	Sitio web del consejo argentino para la información y desarrollo de la biotecnología y temas relacionados con la extracción de ADN vegetal.
Instrumentación y manipulación de micro-pipetas automáticas de Mario Arguello Santacruz.	Blog - Sitio web que documenta el manejo, usos y cuidado de las micropipetas automaticas.
Juana de Pimentel.	Blog de trabajo que registras experiencias química como la extracción de ADN entre 2005 y 2006.

T

Tabla 1. Continuación

Nota. Las respectivas referencias de la información tabulada se encuentran en la página de referencias bibliográficas al final del documento.

La tabla 1 muestra la Información de apoyo para el desarrollo de protocolos y guías de laboratorio. Fuente: ARCOS, 2016.

Para la elaboración de los manuales de manejo de equipos, que se encuentran actualmente en el laboratorio de biología molecular, se consultó las siguientes bibliografías (tabla 2).

Tabla 2.

Información a la que se recurre para realizar manuales de manejo de equipos

Empresa	Observación
Bioted.	Operación de equipos de electroforesis básica.
Heidolph research.	Funcionamiento de agitadores magnéticos y vórtex.
Equipos y laboratorio de Colombia.	Calibración y mantenimiento de equipos como agitadores magnéticos y autoclave.
TP laboratorio químico.	Función y uso de balanza analítica y agitador.
Fuentes documentales y/o físicas que indican técnicas y equipos de laboratorio.	
Bioquímica clínica para tecnologías de salud por Rosales, Valdés, Hernández, Rosell, Dovale, Álvarez, Pérez, Vila, Ramos, Bobilla y Pérez.	Sección de libro que menciona tipos de electroforesis, técnica comúnmente usada en el laboratorio de biología molecular.
Biblioteca virtual de la Universidad Nacional del Santa.	Portal web universitario que describe técnica y tipos de electroforesis.
Equipos básicos de laboratorio de biología molecular de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira.	Documento institucional que registra el uso y manejo de equipos básicos de laboratorio como agitadores, vortex, fotodocumentador, autoclave, destilador, cámara de electroforesis y termociclador.
Servicios técnicos de investigación de la Universidad de Alicante.	Portal web universitario que señala los requisitos, fundamentos, aplicaciones y equipamiento del termociclador.
Biblioteca virtual de salud de Cuba.	Artículo de revista de Hilda García Pérez en el que se refiere a los fundamentos de la electroforesis en geles de poliacrilamida, actualidad e importancia.
LB Pro.	Manual de operaciones de cámara de electroforesis y fuente de poder que describe el ensamblaje, manejo y funcionamiento, preparación de geles y fuentes de errores comunes.
Esco Aeris™	Manual de operaciones de termociclador que indica el fundamento, instalación, ejecución de muestra de PCR, manejo de software, instrucciones de seguridad y de funcionamiento.
Precisa series 321.	Manual de operaciones de la balanza de precisión que dirige el ensamblaje y manipulación de las diferentes funciones del equipo.
Cleaver scientific Ltd.	Manual de operación en el que se introduce al manejo, componentes, especificaciones de uso, instalación y operación del fotodocumentador y sus accesorios.

Tabla 2. Continuación.

Nota. La tabla 2 muestra la Información necesaria para el desarrollo de manuales de funcionamiento de equipos. Fuente: ARCOS, 2016.

Las normas de bioseguridad son esenciales para desarrollar procesos, estas deben documentarse y tenerse en cuenta para la protección del personal de trabajo y para la seguridad y la obtención de resultados confiables y de calidad expedida desde el laboratorio, es por ello que se consultó una cantidad de información para elaborar este documento (tabla 3).

Tabla 3.

Información recolectada sobre normas de bioseguridad

Fuentes de información.	Observación.
Repositorio institucional – Univerisdad Industrial de Santander.	Tesis en la que establece la documentación y normas de trabajo en el laboratorio de inmunología y biología molecular de la UIS regido bajo un sistema de gestión de calidad acorde con la NTC- ISO-IEC 17025, realizado por Claudia Patricia Martínez.
Manual de bioseguridad en laboratorios de la Universidad Autonoma de Medicina San Luis Potosi escrito por García, Nuyola y Arguello en 2012.	Documento de sitio web que contiene el manual de bioseguridad para laboratorios de investigación biomédica.
Normas de bioseguridad - Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid.	Portal web institucional que reglamenta las normas de bioseguridad para los laboratorios de Biología, Genética, Química, Biotecnología y Bioquímica y Nutrición Animal.
Campus virtual web	Señala las normas de trabajo en laboratorios de biología molecular y guía de problemas habituales y su solución.
Biología celular y molecular interactiva en 2013	Blog - Sitio web que decribe la bioseguridad y control de calidad dentro de un laboratorio.

Tabla 3. Continuación.

Nota. La tabla 3 refleja la Información consultada para elaborar el manual de normas de bioseguirdad a implementar en el laboratorio de biología molecular. Fuente. Arcos, 2016.

El cumplimiento del reglamento de trabajo dentro de un laboratorio ayuda a que sea más ameno y seguro los procesos que se llevan a cabo dentro de este, y para ello en la tabla 4 se evidencia la consulta realizada para elaborar este documento.

Tabla 4.

Información consultada para elaborar el reglamento interno del laboratorio de biología molecular

Referencias	Observaciones
Portal web de la Universidad Autónoma del estado de México.	Documento elaborado por de Ángel Garibay que indica los lineamientos que deben seguir los laboratorios de fisica, quimica y biologia de la universidad.
Laboratorios de departamento de Bioquímica, Biología molecular e Inmunología de la Universidad de Malaga.	Portal web que reconoce la reglamentación que debe seguirse dentro de los laboratorios.
Servicio de apoyo a la investigación en biología molecular de la Universidad de Murcia.	Portal web institucional que contiene la normatividad para la utilización de los equipos e instalaciones.
Instituto de biología - Universidad Nacional de México.	Documento en la web del Departamento de Zoología que registra los lineamientos para el uso del laboratorio de código de barras de ADN.

Nota. La tabla 4 hace alusión a la información que se recurrió para conformar el reglamento interno del laboratorio de biología molecular de la UFPSO. Fuente. Arcos, 2016.

3.1.2 Elaboración de las guías y protocolos a implementar.

Para el desarrollo de técnicas moleculares se manejan diversos protocolos establecidos de acuerdo a los equipos y reactivos disponibles en el stock del laboratorio. Sin embargo, los protocolos involucrados, principalmente, en los procesos de investigación genómica exigen equipos y reactivos irremplazables para su apropiado desarrollo, por esta razón algunos de estos protocolos se describen en este trabajo y se dejan documentado en el laboratorio para futuras investigaciones.

a. Protocolos planteados para la extracción de ADN con solventes orgánicos:

- Precipitación de ADN con etanol (anexo 8).
- Precipitación de ADN con isopropanol (anexo 9).
- Concentración de ácidos nucleicos por extracción con butanol (anexo 10).
- Aislamiento de ADN de alto peso molecular usando solventes orgánicos (Fenol: cloroformo) para purificar ADN (anexo 11).

b. Protocolos para extracción de ADN con solventes orgánicos utilizando enzimas proteolíticas:

- Aislamiento de ADN de bacterias gram negativas (ej., *E. coli*), apto para muestra de ADN de 30 a 80 kb de longitud (anexo 12).
- Aislamiento del ADN de células de mamíferos con proteinasa k y fenol (anexo 13).
- Preparación de ADN genómico de pequeñas muestras de tejido (cola de ratón) y protocolos alternativos (anexo 14).
- Aislamiento rápido de ADN genómico de levaduras (anexo 15).
- Cuantificación de ADN genómico, uso de bromuro de etidio para estimar la concentración cualitativa de ADN, en bandas después de electroforesis a través de minigeles (anexo 16).

Guías de laboratorio elaboradas para el desarrollo de prácticas en la asignatura de biología molecular:

- **Normas de bioseguridad:** este documento se estableció en base a cuatro referencias, de las cuales se tomaron en cuanta puntos importantes como barrera adecuadas de protección, zonificación pertinente del laboratorio de biología molecular, consideraciones personales y en caso de emergencia, entre otros aspectos relevantes (anexo 17).
- **Equipos básicos de laboratorio de biología molecular:** esta guía está basada en ocho referencias, donde se logra explicar el principio y funcionamiento básico de cada uno de los equipos con que el laboratorio contaba para el momento: agitador magnético, vórtex, autoclave,

cámara de electroforesis, destilador, equipo para documentación de geles de agarosa, fotodocumentador y termociclador (anexo 18).

- **Micropipetas, uso y calibración:** guía conformada por cuatro fuentes bibliográficas. En este documento se dan las instrucciones necesarias para desarrollar los objetivos de la práctica, los cuales pretenden que los estudiantes se familiaricen y adquieran destreza en el manejo y uso de las micropipetas, adquieran conocimientos para la calibración de las mismas; el desarrollo de esta práctica es esencial, debido a que la micropipeta es una de las herramientas rutinarias durante los procesos de laboratorio de biología molecular, y son aptas para la toma de volúmenes mínimos como microlitros (anexo 19).
- **Extracción de ADN de tejidos vegetales**. El diseño de esta guía se hace acorde con las condiciones actuales del laboratorio, por lo que es una práctica manejable y fácil, que no requiere de equipos y reactivos especializados; esta se fundamenta en dar indicaciones claras que permitan obtener muestras de ADN vegetal proveniente de tres tipos de muestras relacionando el fundamento de cada uno de los materiales usados para conseguir la extracción (anexo 20).

3.1.3 Desarrollo de prácticas académicas.

A lo largo del semestre se hicieron cuatro prácticas de laboratorio, de las cuales coordiné tres y en la restante participe como monitora de la práctica.

Guía de laboratorio N° 1. Normas de bioseguridad

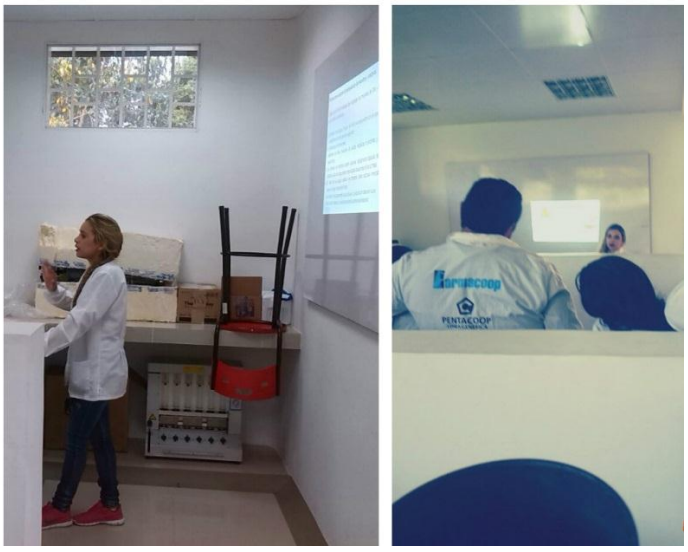


Figura 1. Inducción sobre normas de bioseguridad dentro del laboratorio de biología molecular. Fuente. UFPSO -Salcedo, 2016.

Guía de laboratorio N° 2. Equipos básicos de laboratorio de biología molecular



Figura 2. Indicaciones para el manejo de equipos de laboratorio de biología molecular. Fuente. Salcedo, 2016.

Nota: se hace un reconocimiento por medio audiovisual y una demostración física de los equipos existentes haciendo un recorrido en el laboratorio.

Guía de laboratorio N° 3. Uso y calibración de micropipetas



Figura 3. Práctica de micropipetas. Fuente. Oviedo, 2016.

Nota. Durante esta experiencia participe como monitora de la asignatura de biología molecular a cargo de la docente Juliana Andrea Cuetia Londoño.

Guía de laboratorio N°4. N° 4. Extración de ADN de tejidos vegetales



Figura 4. Práctica de extracción de ADN vegetal. Fuente. Álvarez, 2016.

Nota. Esta práctica se desarrolló en el laboratorio de biología, por la capacidad de albergar un mayor número de estudiantes.

Capítulo 4. Diagnóstico

Para el desarrollo de actividades y la ejecución del laboratorio de biología molecular, se elaboraron y adaptaron nueve protocolos de técnicas moleculares y cuatro guías para la realización de prácticas de la asignatura de Biología Molecular, lo que requirió una exhaustiva recopilación, revisión y análisis de material bibliográfico que permitieron a su vez establecer cierta clase de documentación adecuada y recomendada por la NTC – ISO 9001 y la NTC – ISO – IEC 17025, para todo tipo de laboratorio que busque operar bajo un sistema de calidad técnico y bioseguro para el personal que labore en las instalaciones y las muestras que en él se procesen; así como documentos que certifican el uso, cuidado, calibración y mantenimiento de equipos. Sin embargo, para que el funcionamiento del laboratorio sea idóneo y constante es necesario que sea oportuna la llegada de reactivos y equipos complementarios al inventario existente, que garantizarán el desarrollo de técnicas moleculares, llevando a cabo trabajos de investigación sin necesidad de acudir a laboratorios ajenos a la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña, promoviendo el desarrollo académico e investigativo.

El área destinada al laboratorio es importante para la universidad, ya que puede involucrar a los estudiantes de la Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente en la ciencia de la biología molecular, la cual está muy asociada en los últimos años a procesos investigativos, ya que facilita determinar en especies pecuarias factores de interés para la producción; además con el funcionamiento del laboratorio, la catedra se hace más dinámica y permite poner en práctica los conceptos vistos en el aula y su aplicación al estudio genómico de las especies de interés zootécnico, generando conocimientos y capacitando a los estudiantes en este campo.

Conclusión

Técnicamente las instalaciones y condiciones ambientales del laboratorio de biología molecular hasta el momento no son las más indicadas para el desarrollo de técnicas moleculares; por otro lado el espacio destinado para ello es reducido en correlación con la cantidad de estudiantes que asisten a los procedimientos de laboratorios programados, por lo tanto en algunas ocasiones debe dividirse el grupo por horarios para que todos tenga acceso al desarrollo de las prácticas o, trasladarse a otro laboratorio donde pueda desempeñarse las guías de trabajo cómodamente; sin embargo esto no impide el desarrollo de protocolos y prácticas mediante las cuales he adquirido y reforzado conocimientos de técnicas moleculares. No obstante al contar con equipos y reactivos necesarios pueden ejecutarse procesos de investigación, que promuevan el desarrollo académico y el reconocimiento de la universidad Francisco de Paula Santander Ocaña como ente de formación superior que innova en ciencias de la biología molecular, capacitándose en la implementación de técnicas moleculares que hoy en día están muy involucradas en el avance tecnológico para el desarrollo y estudio genómico de especies pecuarias.

Actualmente el laboratorio se encuentra adscripto al laboratorio de Nutrición Animal, aun así se considera una subdivisión que pertenece al departamento pecuario de la facultad de ciencias agrarias y por tanto de la estructura organizacional de la universidad por lo cual debe ajustarse a las condiciones establecidas para su adecuado funcionamiento y, para cumplir este propósito fue de gran ayuda el conocimiento adquirido a través de la recopilación y análisis de información, necesario para elaborar la documentación importante para el funcionamiento del laboratorio.

Recomendaciones

Es relevante que el stock del laboratorio se especialice en tipos de equipos y reactivos determinantes para el desarrollo de técnicas moleculares; en estas condiciones se podría respaldar y permitir el desarrollo de protocolos para elaborar estudios desde las directrices de la biología molecular, como la caracterización genética de factores importantes de producción en especies de interés zootécnico, lo que conduce a que la universidad francisco de paula Santander Ocaña desde el departamento pecuario, incida en otro tipo de investigaciones de gran interés en el mundo científico e investigativo; así como en generar profesionales capacitados en el campo de la biología molecular que proporcione en ellos otras alternativas laborales.

En consecuencia con lo anterior, se hace imprescindible que el laboratorio se fundamente desde el sistema de gestión de calidad en forma con las NTC – ISO 9001 y la NTC – ISO – IEC 17025, que permita evidenciar la competencia técnica y ofrecer confianza y calidad en los resultados de los análisis derivados de los procesos que se lleven en el laboratorio ejecutando simultáneamente los manuales administrativos y técnicos, y esto se logra implantando lo que exige la normatividad referente a las condiciones ambientales de trabajo y los requerimientos necesarios que lo certifiquen como un espacio bioseguro en cuanto a protección del personal, estructura física de la planta, métodos de esterilización y equipos; por lo que deben hacerse las correcciones físicas pertinentes al área o trasladar el laboratorio a un área de mayores proporciones, para brindarle a la comunidad estudiantil y profesional un espacio apropiado para el desarrollo de las técnicas de biología molecular.

Por último es necesario que el laboratorio cuente con personal competente y constante, que propicie la estandarización y realización de protocolos y preserven también las alternativas de investigación en conjunto con los docentes encargados del área de biología molecular y estudiantes de la universidad.

Referencias

Equipos y laboratorio de Colombia. (s.f.). *Autoclave*. Obtenido de http://www.equiposylaboratorio.com/sitio/contenidos_mo.php?it=1498

Albéndiz, L. G. (01 de 2011). *Dogma central de la biología molecular (actualizado)*. Obtenido de Recursos educativos en CC.NN: http://aprenderasbiologia.blogspot.com.co/2011/01/dogma-central-de-la-biologia-molecular.html

Alem, D., Narancio, R., Díaz Dellavalle, P., Rebuffo, M., Zarza, R., & Dalla Rizza, M. (2011). Molecular characterization of Lotus corniculatus cultivars using transferable microsatellite markers. *Ciencia e Investigación Agraria*.

Analytical Biotech. (s.f.). *PCR anidada*. Obtenido de Analytical Biotech: https://analyticalbiotech.wordpress.com/pcr-anidada/

Área de Bioquímica y Biología Molecular Departamento de Biología Experimental. (01 de 04 de 2016). manejo de micropipetas. Jaen, Andaucia, España.

ArgenBio. (2007). *PQBio*. Obtenido de http://www.porquebiotecnologia.com.ar/adc/uploads/pdf/1Extraccion_ADN_vegetal.pdf

ArgenBio. (s.f.). *El nacimiento de la biología molecular: El descubrimiento de la estructura del ADN*. Obtenido de PQBio: http://www.porquebiotecnologia.com.ar/index.php?action=cuaderno&opt=5&tipo=1&note=65

Arguello Santacruz, M. (15 de 07 de 2015). *Instrumentación y manipulación de micro-pipetas automáticas, usos y cuidados*. Obtenido de http://marioarguello.wordpress.com/2015/07/15/instrumentacion-y-manipulacion-de-micro-pipetas-automaticas-usos-y-cuidados/

Arguello, M. A. (15 de 07 de 2015). *marioarguello.wordpress.com*. Obtenido de https://marioarguello.wordpress.com/2015/07/15/instrumentacion-y-manipulacion-de-micro-pipetas-automaticas-usos-y-cuidados/

Baños Molina, R. (2005). *YfeR, un nuevo regulador de la familia LysR, está implicado en la respuesta al estrés en Salmonella enterica serovar Typhimurium.* Obtenido de Tesis

doctorales en red, Barcelona: http://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/2397/02.RCB_MATERIAL_METODOS.pdf?sequence=3

bioted. (s.f.). Electroforesis Basica. Recuperado el 30 de 03 de 2016, de www.bioted.es: http://www.bioted.es/documentos/ELECTROFORESIS%20BASICA.pdf

Brusés, B. L., Lucero, H., Aguirre, M. V., & Gorodner, J. O. (2000). *http://www.unne.edu.ar/.* Obtenido de http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2000/3_medicas/m_pdf/m_011.pdf

Caetano N, B., Guzman, A., Selvaraj, J., Posso T., A., Muñoz, J., & Ordoñez M., M. (2012). Caracterización molecular del pez dorado (Coryphaena hippurus) en el acífico colombiano utilizando marcadores moleculares RAMs. *Acta agronomica*.

Camacho Rea, M., Arechavaleta Velasco, M., Braña Varela, D., & Ramírez Ramírez , F. (12 de 2013). *Factores genéticos que influyen en la calidad de la carne.* Obtenido de http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Documents/MANUALES%20INIFAP/22.%20Factores%20gen%C3%A9ticos%20calidad%20de%20cerdo%20completo.pdf

Castro, D. (01 de 04 de 2013). *biologos-unalm.blogspot.com.co*. Obtenido de http://biologos-unalm.blogspot.com.co/2013_04_01_archive.html.

Claros , G. (2006). Aproximación histórica a la biología molecular a través de sus protagonistas, los conceptos y la terminología fundamental. *Panacea*, 168 - 179.

Claros, G. (06 de 2003). Aproximación histórica a la biología molecular. *Panace@*, *IV*(12), 168 - 179.

Cleaver Scientific Ltd. (s.f.). *MicroDOC Gel Documentation System.*

Cornejo Romelio, A., Serrato Díaz, A., Rendón Aguilar , B., & Rocha M, M. (2014). Herramientas Moleculares Aplicadas en Ecología: Aspectos teóricos y practicos. En L. Alejos Velásquez, M. Aragón Martínez, & A. Cornejo Romero, *Extracción y Purificación de ADN.* México.

Dahm, R. (10 de 2008). El descubrimiento del ADN. *Investigación y Ciencia*(385).

Díaz Dellavalle, P., Dalla Rizza, M., Vázquez, D., & Castro, M. (2006). Elementos de Análisis Cualitativo y Cuantitativo en Proteínas del Gluten de Trigo. *Agricultura Tecnica, 66*(4).

Díaz Moreno, S. (s.f.). *Cómo ver la PCR en directo: la RT-PCR.* Obtenido de Encuentros en la Biología: http://www.encuentros.uma.es/encuentros101/pcr.htm

Durantes, D. (16 de 10 de 2015). *El Dogma Central de la Biología Molecular.* Obtenido de Del laboratorio a las aulas: https://investigarentiemposrevueltos.wordpress.com/2015/10/16/el-dogma-central-de-la-biologia-molecular/

easy learn genetics. (2014). *¿Qué es el ADN?* Obtenido de Genetic Education for Illinois: https://easylearngenetics.net/what-is-genetics/what-is-dna/que-es-el-adn/

Equipos y Laboratorio de Colombia. (30 de 03 de 2016). AUTOCLAVES DE LABORATORIO. Obtenido de http://www.equiposylaboratorio.com/sitio/contenidos_mo.php?it=1498

Equipos y Laboratorio de Colombia. (01 de 04 de 2016). *www.equiposylaboratorio.com.* Obtenido de www.equiposylaboratorio.com/sitio/contenidos_mo.php?it=1031

equipos y laboratorio. (s.f.). *www.equiposylaboratorio.com*. Obtenido de http://www.equiposylaboratorio.com/sitio/contenidos_mo.php?it=1031

Equipos y laboratorios de Colombia. (s.f.). *Agitadores magneticos*. Obtenido de Equipos y laboratorios de Colombia: http://www.equiposylaboratorio.com/sitio/contenidos_mo.php?it=2969

Esco AerisTM. (s.f.). *Manual Esco AerisTM PCR Thermal Cycler.*

Fallos, S., & Lopez, B. (25 de 07 de 2013). *Biología biomolecular* . Obtenido de http://biologiabiomolecular.blogspot.com.co/2013/07/historia-y-descubrimiento-del-adn.html

FAO. (s.f.). Obtenido de http://www.fao.org/3/a-a1250s.pdf

FAO. (s.f.). *La situación de los recursos zoogenéticos mundiales para la alimentación y la agricutura.* (B. Rischkowsky , & D. Pilling, Edits.) Obtenido de Comisión de recursos genéticos para la alimentación y agricultura: http://www.fao.org/3/a-a1250s.pdf

Fernández Ruiz, P. (s.f.). *Hibridación de los ácidos nucleicos.* Obtenido de Sociedad española de anatomía patológica.: http://www.seap.es/c/document_library/get_file?uuid=dd48aeb8-9e38-4541-bcfb-d75fd6b2ee9f

Ferrer, E., Lares, M., Viettri, M., & Medina, M. (2012). Comparación entre técnicas inmunológicas y moleculares para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Enfermedades infecciosas y microbioloía clinica*, 277 - 282.

Galíndez, R. (s.f.). *La genética en a producción animal.* Obtenido de Universidad Central de Venezuela:

http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/Producion_Animal/ProducciOn_Animal/2_Genetica_etapaII.pdf

García Pérez, H. (2000). Electroforesis en geles de poliacrilamida: fundamentos, actualidad e importancia. *Universo Diagnóstico* , 31 - 41.

García Sancho, M. (04 de 2014). El hombre que convirtió los genes en secuencias. *Sociedad española de bioquímica y biología molecular*.

Gen molecular. (s.f.). *Técnicas de biología molecular*. Obtenido de Dsde Mendel hasta las moleculas: https://genmolecular.com/tecnicas-de-biologia-molecular/

González, N., Rodríguez, N., Torres, W., O´callaghan, J., & Rosa de Jesús. (2011). Protocolo sesncillo para la extracción de ADN genómico de tejido de oreja del ratón y la rata usando enzima Bromeliana. *Revista Científica FCV-LUZ, 21*(3).

Gonzalo Claros, M. (s.f.). Evolución histórica de la Biología. *Encuentros en la biología*.

Gonzalo, C. (Junio de 2003). Aproximación histórica a la biología molecular a través de sus protagonistas, los conceptos y la terminología fundamental. *Panace@ , Vol. IV, n.º 12.*

Greif, G. (s.f.). *Métodos de secuenciación de ácidos nucleicos.* Obtenido de Unidad de Biología Molecular. Institut Pasteur Montevideo: http://www.chlaep.org.uy/descargas/curso_tb_mico_bacterias/metodos_de_secuenciacion_de_acidos_nucleicos.pdf

Heidolhp. (s.f.). *agitadores y mezcladores*. Obtenido de Heidolph: http://www.heidolph.es/productos/agitadores-y-mezcladores/agitadores-para-tubos-de-ensayo/reax-top/

heidolph. (30 de 03 de 2016). Hei-PLATE Magnetic Stirrers. Obtenido de http://www.heidolph.es/productos/agitador-magnetico-de-heidolph-caja-fuerte-y-calefaccion-de-mezcla-en-quimica-farmaceutica-biotecnologia-cosmetica-y-la-industria-alimentaria/

Heidolph. (s.f.). *Agitadores magnétocos*. Obtenido de Heidolph: http://www.heidolph.es/productos/serie-hei-plate/tabnavi/en-general/

Hernández Amado, M., & Palacio Jordán , A. (2005). *Diseño y documentación de un sistema de gestión de calidad para el laboratorio de biología molecular el centro de innovación en biotecnología indistrila y biología molecular (CINBIN) de la Universidad Industrial de Santander según los lineamientos* . Obtenido de Repsotiorio Institucional Universidad

Industrial de Santander: http://repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/11100/2/119430.pdf

Hernández Amado, M., & Palacio Jordán, A. (2005). *Diseño y Documentación de un Sistema de Gestión de (CINBIN) de la Universdiad Industrial de Santander según los Lineamientos de la Norma NTC-ISO 17025 : 2001*. Obtenido de Repositorio UIS: http://repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/11100/2/119430.pdf

Hernández H, D. Y., Muñoz F, J. E., & Álvarez F, L. (2014). Asociación del locus BOLA-DRB3.2 con el virus d ela leucosis bobina en el ganado criollo colombiano. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 319 - 326.

Hernández-Herrera, D. Y., Benavides, J., Giovambattista, G., Posso Terranova, A., Muños Florez , J., & Álvarez, L. (2011). *scielo.* Obtenido de http://www.scielo.org.co/pdf/acag/v60n4/v60n4a03.pdf

I.E.S., Juana de Pimentel. (2006). *La Ciencia a tu alcance II*. Obtenido de http://www.jpimentel.com/ciencias_experimentales/pagwebciencias/pagweb/la_ciencia_a_tu_alcance_II/quimica/Experiencias_quimica_extraccion_de_adn.htm

I.E.S., Juana de Pimentel. (2006). *La Ciencia a tu alcance II*. Obtenido de http://www.jpimentel.com/ciencias_experimentales/pagwebciencias/pagweb/grupo_de_trabajo_2.htm

Intrumentos de laboratorio. (05 de 2012). *Destilador*. Obtenido de http://www.instrumentosdelaboratorio.net/2012/05/destilador-de-agua.html

Jesús, R. d., Moreno, N., & Martínez, J. A. (01 de 2005). ENSAYO DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ADN DE RATÓN PARA SER USADO EN EL CONTROL GENÉTICO DE RATONES CONSANGUÍNEOS MEDIANTE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR). *FCV - LUZ, XV*(2), 134 - 140.

La guía 2000. (s.f.). *Qué pasa dentro de un Termociclador.* Obtenido de Técnicas en biología: http://biologia.laguia2000.com/tecnicas-en-biologia/explicando-el-protocolo-de-la-pcr#ixzz43Ac60151

Laboratorio de genética molecular (CENLAC); Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria(CENSA). (01 de 2011). PRODUCCIÓN ANIMAL Y BIOTECNOLOGÍAS PECUARIAS: NUEVOS RETOS. *Revista de Salud Animal, 33*, 8 - 14.

LB Pro. (s.f.). *Manual balanza de presicion serie 321*.

LB Pro. (s.f.). *Operation instruction / horizontal electrophoresis tank.*

Lopez Lopez , K., & Vaca Vaca, J. (2011). *Guias de Laboratorio de Metodos en Biologia Molecular.* Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, Palmira.

Lopez Lopez, K., & Vaca Vaca , J. (2011). *Micropipetas: uso y calibración.* Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, Palmira.

López López, K., & Vaca Vaca, J. C. (2011). *Micropipetas: uso y calibración.* Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, Palmira.

LOPEZ, K., & VACA, J. C. (2011). Obtenido de https://mail.google.com/mail/u/0/#inbox/153c7a703b2fea53?projector=1

López, M., Rivera, M., Lares, M., Viettri, M., Morocoima, A., Herrera, L., y otros. (2014). Comparación de dos protocolos de extracción de ADN de Trypanosoma cruzi cultivados en medio axénico. *Revista peruana de medicina experimental y salúd pública*.

Martínez Correal, G. (2010). *FAO.* Obtenido de https://coin.fao.org/coin-static/cms/media/12/13346079520090/pna02-arreglado.pdf

Martínez Trujillo, M., Farias Chagoya, H., Ballesteros A., L., & Abrego Aranda, J. L. (08 de 2011). *MANUAL DE PRÁCTICAS BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR II.*

Martínez, C. (2005). *Diseño, documentación e implementación de un sistema de gestión de la calidad para el laboratorio de inmunología y biología molecular de la Universidad Industrial de Santander según los lineamientos de norma NTC-ISO-IEC 17025* . Obtenido de Repositorio Institucional Universidad Industrial de Santander: http://repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/4701/2/119096.pdf

MOLINA, N. B., POLVERINO, D., MINVIELLE, M., APEZTEGUÍA, M., AGUILAR, M., & BASUALDO, J. (2006). Comparación de métodos de lisis y extracción de ADN de trofozoítos de Giardia lamblia. *Parasitología Latinoaméricana, 61*(3 - 4).

Montalvo Álvarez, A. (2011). *Tipificación de especies de Leishmania de importancia médica basada en el gen que codific la proteína HSP70 citoplasmática.* Obtenido de Instituto de Médicina Tropical Pedro Kourí - Habana: http://tesis.repo.sld.cu/305/1/anam_montalvo.pdf

Muñoz, E. (2009). *La secuenciación: una práctica con mucha historia.* Obtenido de Institute Roche: http://institutoroche.es/Biotecnologia/Editorial/44

Murguía, M. (03 de 2015). *www.olimpiadn.educabarrie.org.* Obtenido de http://olimpiadn.educabarrie.org/wp-content/uploads/2015/03/EXTRACCI%C3%93N-DE-ADN-MANUEL-MURGU%C3%8DA.pdf

Niedmann Lolas, L., & Meza Basso, L. (2006). Evaluación de Cepas Nativas de Bacillus thuringiensis Como una Alternativa de Manejo Integrado de la Polilla del Tomate (Tuta absoluta Meyrick; Lepidoptera: Gelechiidae) en Chile. *Agricultura Tecnica, 66*(3).

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2016). *Biotecnologías agrícolas.* Obtenido de www.fao.org/biotech/sectoral-overviews/biotech-livestock/es/

Organización Mundial de Salud Animal. (01 de 2008). *OIE*. Obtenido de http://www.oie.int/es/para-los-periodistas/comunicados-de-prensa/detalle/article/the-oie-expands-its-action-in-biotechnologies-in-anticipation-of-future-use-in-improving-animal-heal/

oxford dictionaries. (25 de 02 de 2016). *http://www.oxforddictionaries.com/es/definicion/espanol/universidad*.

Padilla Peña, C., Diez Dapena, J., Martínez, E., Bárcena Ruiz, J., & García, C. (s.f.). *Electroforesis de ácidos nucleicos en geles de agarosa. Aislamiento y caracterización electroforética de DNA plasmídico.* Obtenido de Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Campus Universitario de Rabanales, Córdoba.: http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/17%20ELECTROFORESIS%20ACS%20NUCLEICOS%20GELES%20AGAROSA.pdf

Peña Castro, J., Ramírez, O. G., & Barrera , B. (04 de 2013). Los métodos experimentales que permiten el estudio de las macromoléculas de la vida: historia, fundamentos y perspectivas. *ScienceDirect, 24*, 237 -246.

Peña Castro, J., Ramírez, O., & Barrera, B. (04 de 2013). Los métodos experimentales que permiten el estudio de las macromoléculas de la vida: historia, fundamentos y perspectivas. *Educación Química Science Direct, 24*, 237 - 246.

Pérez de la Torre, M. (s.f.). *Marcadores genéticos: ¿Para qué sirven?* Obtenido de Intituto Nacional de Tecnología Agropecuaria: http://inta.gob.ar/documentos/marcadores-geneticos-bfpara-que-sirven

Politécnico colombiano Jaime Isaza Cadavid. (2012). *Normas de bioseguridad para los Laboratorios de Biología, Genética, Química, Biotecnología y Bioquímica y Nutrición Animal.* Obtenido de http://www2.politecnicojic.edu.co/images/stories/facultades/normas_bioseguridad_2012.pdf

politecnicojic. (2012). *www.politecnicojic.edu.co*. Obtenido de http://www.politecnicojic.edu.co/www.politecnicojic.edu.co/images/stories/facultades/normas_bioseguridad_2012.pdf

Rangel Espitia, E., Martínez Cruz, E., Peña Bautista, R., Villaseñor Mir, H., & Huerta Espino, J. (03 de 2008). Polimorfismo de gluteninas de alto peso molecular y su relación con trigos harineros para temporal. *Agricultura Tecnica en México, 34*(1).

Raven, P., & Jhonson , G. (s.f.). The first genetic map: Drosophila x chromosome. En Biology. Mc Graw Hill.

Recinto universitario de Mayagüez. (s.f.). *Electroforesis de proteínas en geles de poliacrilamida.* Obtenido de http://www.uprm.edu/biology/profs/velez/poli.htm

Ríos Rodríguez, M., Castro Molina, S., Ariza Botero, M., Rodríguez, G., Rodríguez Mojica, J., & Castro Rincón, E. (s.f.). Construcción del mapa de ligamiento para el cromosoma 3 en una pobción de ovino de pelo criollo. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*.

Roche Applied Science developed by 454 Life Sciences. (2008). *emPCR*. Obtenido de Life Sequencing: http://www.lifesequencing.com/pages/protocolo-de-secuenciacion

Rosales L, C., Valdés Valdés, A., Hernández Fernández, R., Rosell Puig, W., Dovale Borjas, C., Álvarez Torres, I., y otros. (s.f.). Método de absorción ultravioleta a 280 nm. En *Bioquímica clinica para tecnologías de salud.*

Sánchez de Rivas, C. (12 de 2014). Bacteriófagos: su importancia en los inicios de la biología molecular. *QuímicaViva*(3), 26 - 39.

Santacruz, M. A. (15 de 07 de 2015). *Instrumentación y manipulación de micro-pipetas automáticas, usos y cuidados*. Obtenido de http://marioarguello.wordpress.com/2015/07/15/instrumentacion-y-manipulacion-de-micro-pipetas-automaticas-usos-y-cuidados/

Sepúlveda Alsado, C. (2014). *http://repositorio.uchile.cl/.* Obtenido de http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/132082/Comparaci%C3%B3n-de-la-

inhibici%C3%B3n-de-la-reacci%C3%B3n-en-cadena-de-la-polimerasa-seg%C3%BAn-la-extracci%C3%B3n-de-DNA-de-Cryptosporidium-spp.pdf?sequence=1&isAllowed=y

TIPOS. (s.f.). *www.tipos.co*. Obtenido de http://www.tipos.co/tipos-de-adn/

tp laboratorio quimico. (30 de 03 de 2016). Agitador magnetico. Obtenido de www.tplaboratorioquimico.com: https://www.tplaboratorioquimico.com/laboratorio-quimico/materiales-e-instrumentos-de-un-laboratorio-quimico/agitador-magnetico.html

tp Laboratorio Quimico. (30 de 03 de 2016). Balanza Analitica. Obtenido de https://www.tplaboratorioquimico.com/laboratorio-quimico/materiales-e-instrumentos-de-un-laboratorio-quimico/balanza-analitica.html

UFPSO. (s.f.). *Estructura*. Obtenido de https://www.ufpso.edu.co/Estructura

UFPSO. (s.f.). *Misióm - Visión.* Obtenido de UFPSO: https://www.ufpso.edu.co/Mision-vision

UFPSO. (s.f.). *misión - visión*. Obtenido de https://www.ufpso.edu.co/Mision-vision

UFPSO. (s.f.). *Sistema Integrado de Gestión*. Obtenido de https://ufpso.edu.co/sig/

UFPSO. (s.f.). *Subdirección académica*. Obtenido de https://ufpso.edu.co/sub_academica/Funciones

UFPSO. (s.f.). *www.ufpso.edu.co*. Obtenido de https://ufpso.edu.co/sub_academica

UFPSO, U. F. (s.f.). *ufpso.edu.co*. Obtenido de https://ufpso.edu.co/Historia

Universidad de Alcalá. (s.f.). *Electroforesis de ácidos nucleicos en gel*. Obtenido de Biomodel: http://biomodel.uah.es/biomodel-misc/anim/elfo/electrof.html

Universidad de Alicante. (s.f.). *Servicios Técnicos de Investigación.* Obtenido de Uso de Termociclador para PCR: http://sstti.ua.es/es/instrumentacion-cientifica/unidad-de-genomica-y-proteomica/uso-de-termociclador-para-pcr.html

Universidad de Alicante. (s.f.). Uso del termociclador para PCR. San Vicente de Raspeig, Alicante, España. Obtenido de http://sstti.ua.es/es/instrumentacion-cientifica/unidad-de-genomica-y-proteomica/uso-de-termociclador-para-pcr.html

Universidad de Jaen. (2016). *www4.ujaen.es*. Obtenido de http://www4.ujaen.es/~pedrajas/Micropipetas.swf

Universidad de Jaen. (s.f.). *Manejo de micropipetas.* Obtenido de área de bioquímica y biología molecular departamenteo de Biología experimental: http://www4.ujaen.es/~pedrajas/Micropipetas.swf

Universidad Nacional del Santa. (s.f.). *Electroforesis.* Obtenido de UNS: http://biblioteca.uns.edu.pe/saladocentes/archivoz/curzoz/electroforesis.pdf

Universitat de Barcelona. (s.f.). *Electroforesis de proteínas en geles de poliacrilamida.* Obtenido de www.ub.es/biocel/wbc/tecnicas/page.htm

University of Florida. (s.f.). *Polymerase Chain Reaction: Detecting the invisible presence of biological weapons and future benefits for mosquito-borne disease surveillance.* Obtenido de Florida Medical Entomology Laboratory: http://fmel.ifas.ufl.edu/buzz/cspcr.shtml

University of UTAH Health Sciences. (2016). *Learn genetics*. Obtenido de http://learn.genetics.utah.edu/content/labs/extraction/

Vinasco, Á., Álvarez, L., & Muñoz, J. (11 de 2009). *Simposio Iberoaméricano sobre conservación y utilización de recursos zoogenéticos.* Obtenido de http://www.uco.es/conbiand/pdf/palmira2009.pdf

Weaver, R. F. (2012). *Molecular Biology.* New York: McGraw-Hill.

Weaver, R. F. (2012). Molecular Biology. New York: McGraw-Hill.

www.learn.genetics.utah.edu. (s.f.). Obtenido de http://learn.genetics.utah.edu/es/extraction/

Apéndices

Apéndice 1. Inventario de reactivos del laboratorio

CANTIDAD	DESCRIPCION Y ESPECIFICACIONES	PRESENTACION	MARCA	CAS
1	Acrilamida - Grado biología molecular - para electroforesis	500 gr		79-06-1
1	Tris Base	Frasco X 1 Kg		CAS 77-86-1
2	Sacarosa - Grado biología molecular	1 Kg		CAS 57-50-1
1	Solucion buffer pH: 7,00 (verde) Certipur Fecha de vencimiento no inferior a 3 años	500 Ml	Merck	
1	Solucion buffer pH: 4,00 (rojo) Certipur. Fecha de vencimiento no inferior a 3 años	500 Ml	Merck	
1	Solucion buffer pH: 9,00 (azul) Certipur Fecha de vencimiento no inferior a 3 años	500 Ml	Merck	
1	Solucion buffer pH: 10,00 Certipur	500 Ml	Merck	
1	Azul de bromofenol	50 gr		CAS 115-39-9
1	Formamida 37%	1 Lt		CAS 75-12-7
1	Triton X-100	500 ML	Life technologies	CAS 9002-93-1
1	Proteinasa K	5 X 1 ML	Life technologies	EO0491

10	Etanol 70%

Apéndice 2. Fichas de seguridad de los productos químicos existentes en el laboratorio

Fichas Internacionales de Seguridad Química

ETILENDIAMINOTETRAACETATO DE TETRASODIO	ICSC: 1688
	Octubre 2006

Sal tetrasódica del ácido etilendiaminotetraacético
Sal tetrasódica del ácido acético tetra-(etilendinitrilo)
Sal tetrasódica del ácido N,N'etilendiaminodiacético
EDTA Tetrasodio

CAS: 64-02-8
RTECS: AH5075000
CE / EINECS: 200-573-9

$C_{10}H_{12}N_2O_8Na_4$ / $((NaOOCCH_2)_2NCH_2)_2$
Masa molecular: 380,2



TIPO DE PELIGRO / EXPOSICIÓN	PELIGROS AGUDOS / SÍNTOMAS	PREVENCIÓN	PRIMEROS AUXILIOS / LUCHA CONTRA INCENDIOS
INCENDIO	Combustible. En caso de incendio se desprenden humos (o gases) tóxicos e irritantes.	Evitar las llamas.	Polvo, agua pulverizada, espuma, dióxido de carbono.
EXPLOSIÓN	Las partículas finamente dispersas forman mezclas explosivas en el aire.	Evitar el depósito del polvo; sistema cerrado, equipo eléctrico y de alumbrado a prueba de explosión del polvo.	

EXPOSICIÓN		¡EVITAR LA DISPERSIÓN DEL POLVO!	
Inhalación	Tos. Dolor de garganta.	Extracción localizada o protección respiratoria.	Aire limpio, reposo.
Piel	Enrojecimiento.	Guantes de protección.	Aclarar la piel con agua abundante o ducharse.
Ojos	Enrojecimiento. Dolor.	Gafas ajustadas de seguridad.	Enjuagar con agua abundante durante varios minutos (quitar las lentes de contacto si puede hacerse con facilidad), después proporcionar asistencia médica.
Ingestión	Sensación de quemazón en la garganta y el pecho. Dolor abdominal. Diarrea.	No comer, ni beber, ni fumar durante el trabajo.	Enjuagar la boca. Proporcionar asistencia médica.

Observación. Las fichas de seguridad de cada reactivo se almacena en físico en las instalaciones del laboratorio de biología molecular.

Apéndice 3. Manuales de procedimientos de equipos

Universidad
Francisco de Paula Santander
Ocaña - Colombia
NIT. 800 163 130 - 0

Manual de procedimientos de equipos en el laboratorio de biología molecular de la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña

Termociclador: Esco Aeris™ PCR Thermal Cycler

El termociclador o secuenciador térmico es un equipo que permite la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de forma eficiente y rápida, mediante la realización automática y cíclica de los cambios de temperatura que se requieren para la amplificación de una cadena de ácido desoxirribonucleico (ADN), a partir de una enzima termoestable. La PCR posibilita que una pequeña cantidad de moléculas de ADN sea amplificada muchas veces, de manera exponencial, tiene una variedad de aplicaciones, entre ellas: la detección de la expresión de genes y de enfermedades hereditarias, la identificación de huellas genéticas, la clonación de genes, las pruebas de paternidad, la informática del ADN y el diagnóstico de enfermedades infecciosas.

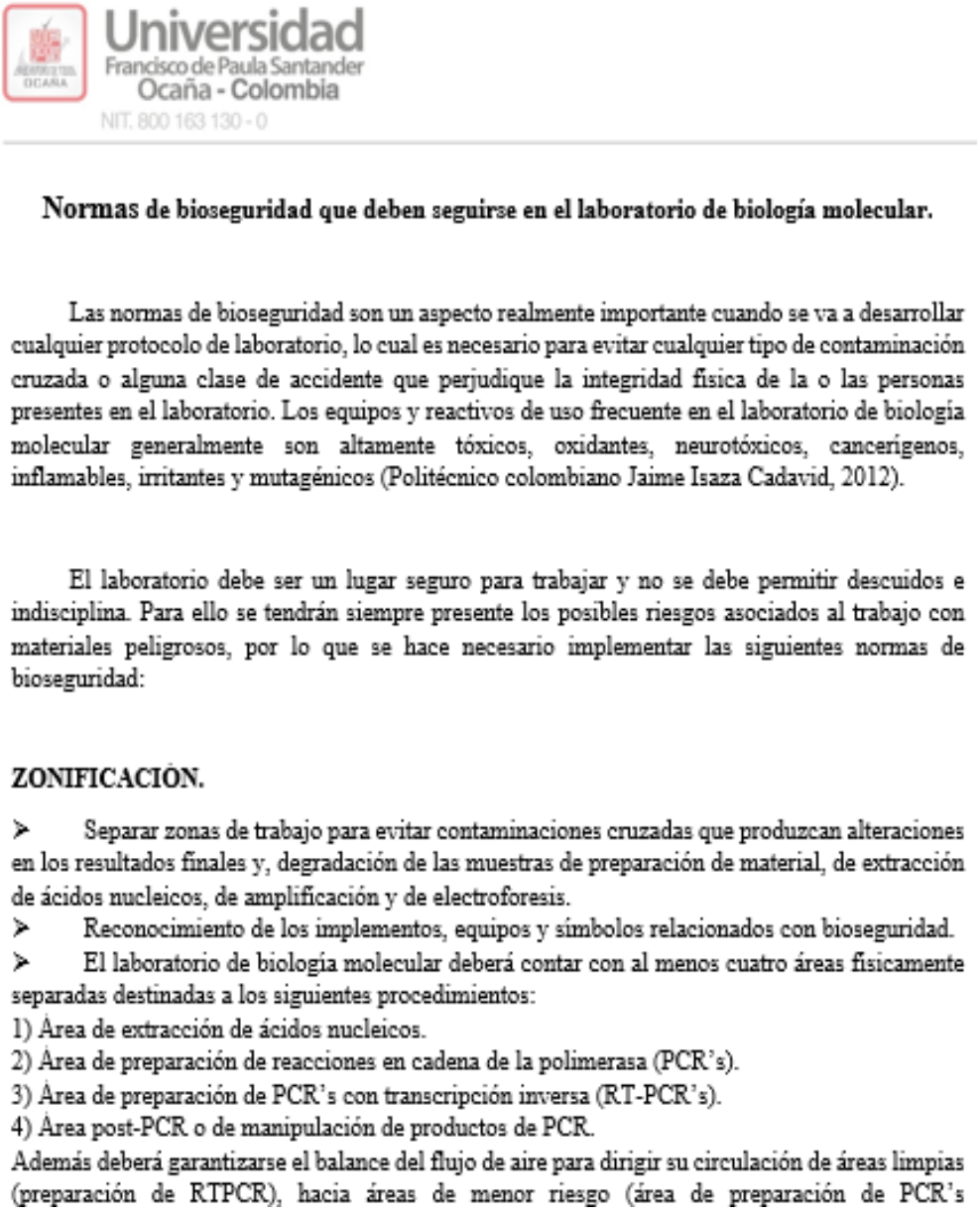
La PCR (reacción en cadena de la polimerasa) consiste en la amplificación de fragmentos de ADN mediante el uso de la enzima ADN polimerasa. Esta enzima tiene capacidad para sintetizar nuevas cadenas de ADN mediante la incorporación de bases nucleotídicas, a partir de una secuencia corta conocida (oligo, cebador o primer) que hibrida de forma complementaria con uno de los extremos de la hebra. El crecimiento de la nueva hebra se realiza en sentido 5' a 3'. Los actuales termocicladores son capaces de realizar rápidos cambios de temperatura que permiten realizar los tres pasos de la reacción de PCR de forma cíclica: desnaturalización del DNA, alineamiento o unión del cebador con la secuencia de DNA complementaria y extensión de la cadena (Universidad de Alicante).

Figura 1. Partes que componen el Esco Aeris™ PCR Thermal Cycler.



Observación. Los manuales de procedimientos de cada equipo permanecen en físico en el laboratorio de biología molecular.

Apéndice 4. Normas de bioseguridad dentro del laboratorio



Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña - Colombia
NIT. 800 163 130 - 0

Normas de bioseguridad que deben seguirse en el laboratorio de biología molecular.

Las normas de bioseguridad son un aspecto realmente importante cuando se va a desarrollar cualquier protocolo de laboratorio, lo cual es necesario para evitar cualquier tipo de contaminación cruzada o alguna clase de accidente que perjudique la integridad física de la o las personas presentes en el laboratorio. Los equipos y reactivos de uso frecuente en el laboratorio de biología molecular generalmente son altamente tóxicos, oxidantes, neurotóxicos, cancerígenos, inflamables, irritantes y mutagénicos (Politécnico colombiano Jaime Isaza Cadavid, 2012).

El laboratorio debe ser un lugar seguro para trabajar y no se debe permitir descuidos e indisciplina. Para ello se tendrán siempre presente los posibles riesgos asociados al trabajo con materiales peligrosos, por lo que se hace necesario implementar las siguientes normas de bioseguridad:

ZONIFICACIÓN.

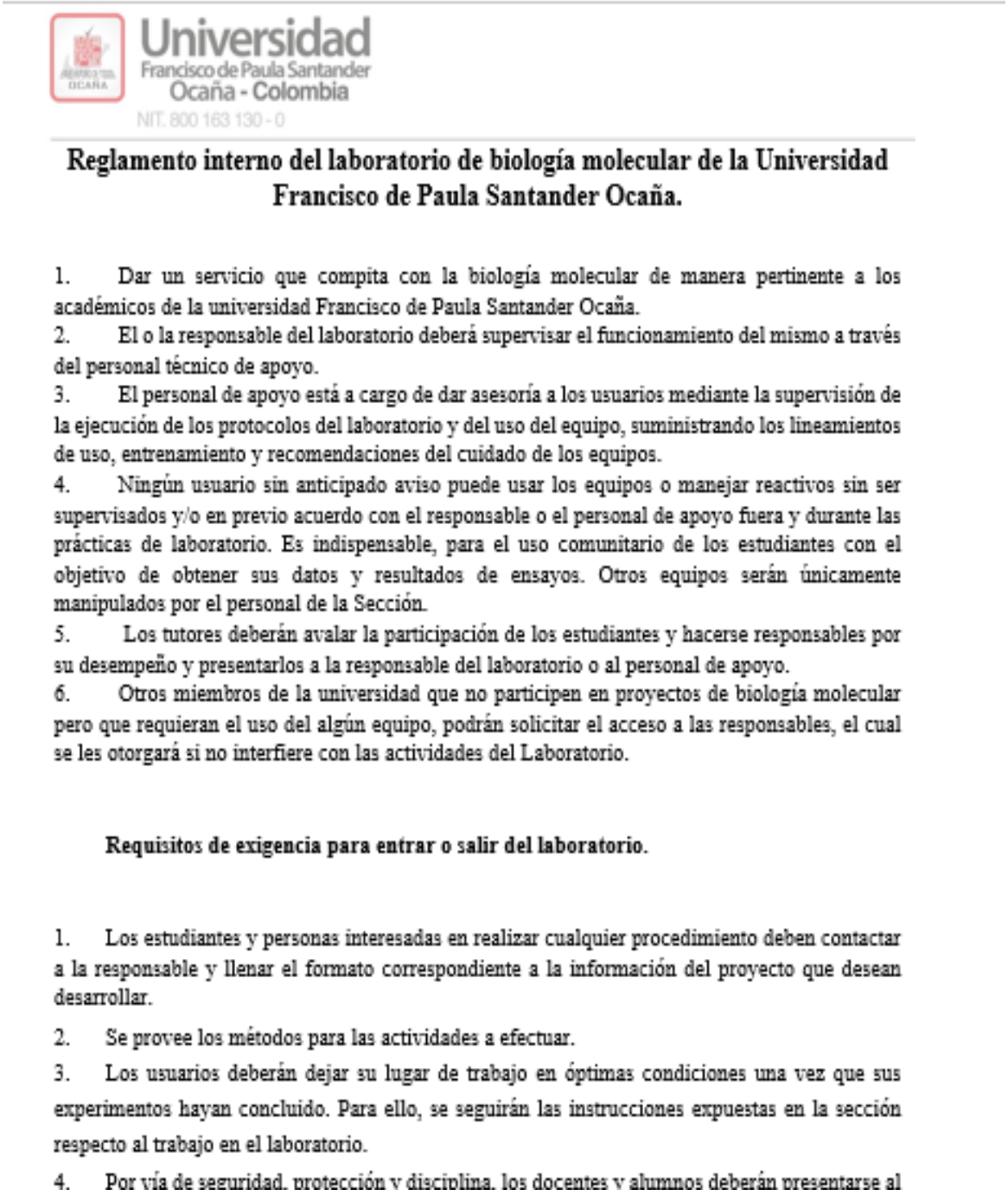
- Separar zonas de trabajo para evitar contaminaciones cruzadas que produzcan alteraciones en los resultados finales y, degradación de las muestras de preparación de material, de extracción de ácidos nucleicos, de amplificación y de electroforesis.
- Reconocimiento de los implementos, equipos y símbolos relacionados con bioseguridad.
- El laboratorio de biología molecular deberá contar con al menos cuatro áreas físicamente separadas destinadas a los siguientes procedimientos:

1) Área de extracción de ácidos nucleicos.
2) Área de preparación de reacciones en cadena de la polimerasa (PCR's).
3) Área de preparación de PCR's con transcripción inversa (RT-PCR's).
4) Área post-PCR o de manipulación de productos de PCR.

Además deberá garantizarse el balance del flujo de aire para dirigir su circulación de áreas limpias (preparación de RTPCR), hacia áreas de menor riesgo (área de preparación de PCR's

Observación. El documento original y completo correspondiente a las normas de bioseguridad permanece en el laboratorio de biología molecular.

Apéndice 5. Reglamento interno



Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña - Colombia
NIT. 800 163 130 - 0

Reglamento interno del laboratorio de biología molecular de la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña.

1. Dar un servicio que compita con la biología molecular de manera pertinente a los académicos de la universidad Francisco de Paula Santander Ocaña.
2. El o la responsable del laboratorio deberá supervisar el funcionamiento del mismo a través del personal técnico de apoyo.
3. El personal de apoyo está a cargo de dar asesoría a los usuarios mediante la supervisión de la ejecución de los protocolos del laboratorio y del uso del equipo, suministrando los lineamientos de uso, entrenamiento y recomendaciones del cuidado de los equipos.
4. Ningún usuario sin anticipado aviso puede usar los equipos o manejar reactivos sin ser supervisados y/o en previo acuerdo con el responsable o el personal de apoyo fuera y durante las prácticas de laboratorio. Es indispensable, para el uso comunitario de los estudiantes con el objetivo de obtener sus datos y resultados de ensayos. Otros equipos serán únicamente manipulados por el personal de la Sección.
5. Los tutores deberán avalar la participación de los estudiantes y hacerse responsables por su desempeño y presentarlos a la responsable del laboratorio o al personal de apoyo.
6. Otros miembros de la universidad que no participen en proyectos de biología molecular pero que requieran el uso del algún equipo, podrán solicitar el acceso a las responsables, el cual se les otorgará si no interfiere con las actividades del Laboratorio.

Requisitos de exigencia para entrar o salir del laboratorio.

1. Los estudiantes y personas interesadas en realizar cualquier procedimiento deben contactar a la responsable y llenar el formato correspondiente a la información del proyecto que desean desarrollar.
2. Se provee los métodos para las actividades a efectuar.
3. Los usuarios deberán dejar su lugar de trabajo en óptimas condiciones una vez que sus experimentos hayan concluido. Para ello, se seguirán las instrucciones expuestas en la sección respecto al trabajo en el laboratorio.
4. Por vía de seguridad, protección y disciplina, los docentes y alumnos deberán presentarse al

Observación. El documento total en el que figura el reglamento interno se encuentra en físico en el laboratorio de biología molecular.

Apéndice 6Formatos de hojas de vida de cada equipo que refleja la historia de reporte de calibraciones, mantenimiento y registro de usabilidad de equipos dentro y fuera del laboratorio en calidad de préstamo



UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER OCAÑA

Documento	Código	Fecha	Revisión
FORMATO FICHA TÉCNICA DE EQUIPOS	F-IM-OPL-003	14-10-2011	A
Dependencia: INFRAESTRUCTURA Y MANTENIMIENTO	Aprobado: COORDINADOR DE INFRAESTRUCTURA Y MANTENIMIENTO		Pág. 1(2)

Ficha No: _____ Fecha de registro: _____

FICHA TÉCNICA DE EQUIPOS

Nombre del laboratorio o área: Nutrición Animal- Área Biología Molecular.

1. DESCRIPCIÓN

1.1 Nombre del equipo: AGTador.		Código inventario:
1.2 Marca: HeidolPH	Modelo:	Serie No:
1.3 Ubicación:		
1.4 Fecha de ingreso:		
1.5. Periodo de garantía:	1.6 Término de garantía (fecha):	

1.7 Condiciones en que se recibió el equipo:
Nuevo ( ) Usado ( ) Reacondicionado( )

1.8 Fabricación y representación

Nombre del fabricante: _____
Dirección: _____
Teléfono: _____ Fax: _____
e- mail: _____
Nombre del representante legal: _____
Nombre del contacto: _____

2. INFORMACIÓN TÉCNICA

2.1 Marque con una X la información de soporte:

Manual de operaciones ( )
Manual de instalación ( )
Manual de servicio ( )
Otra literatura indicar ( )
No existe información técnica ( )
Certificado de garantía ( )
Otros ( ) cual: _____

2.2 Estado del equipo:

Número de actualizaciones:

(1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9) (10)

Observaciones:

3. ESPECIFICACIONES
(Registro donde aplique)

3.1 Generales
Mecánico ( ) Electrónico ( ) Eléctrico ( ) Automático ( ) Semiautomático ( )
Panel: Analógico ( ) Digital ( )
Capacidad: Pies cúbicos: Litros: Área:

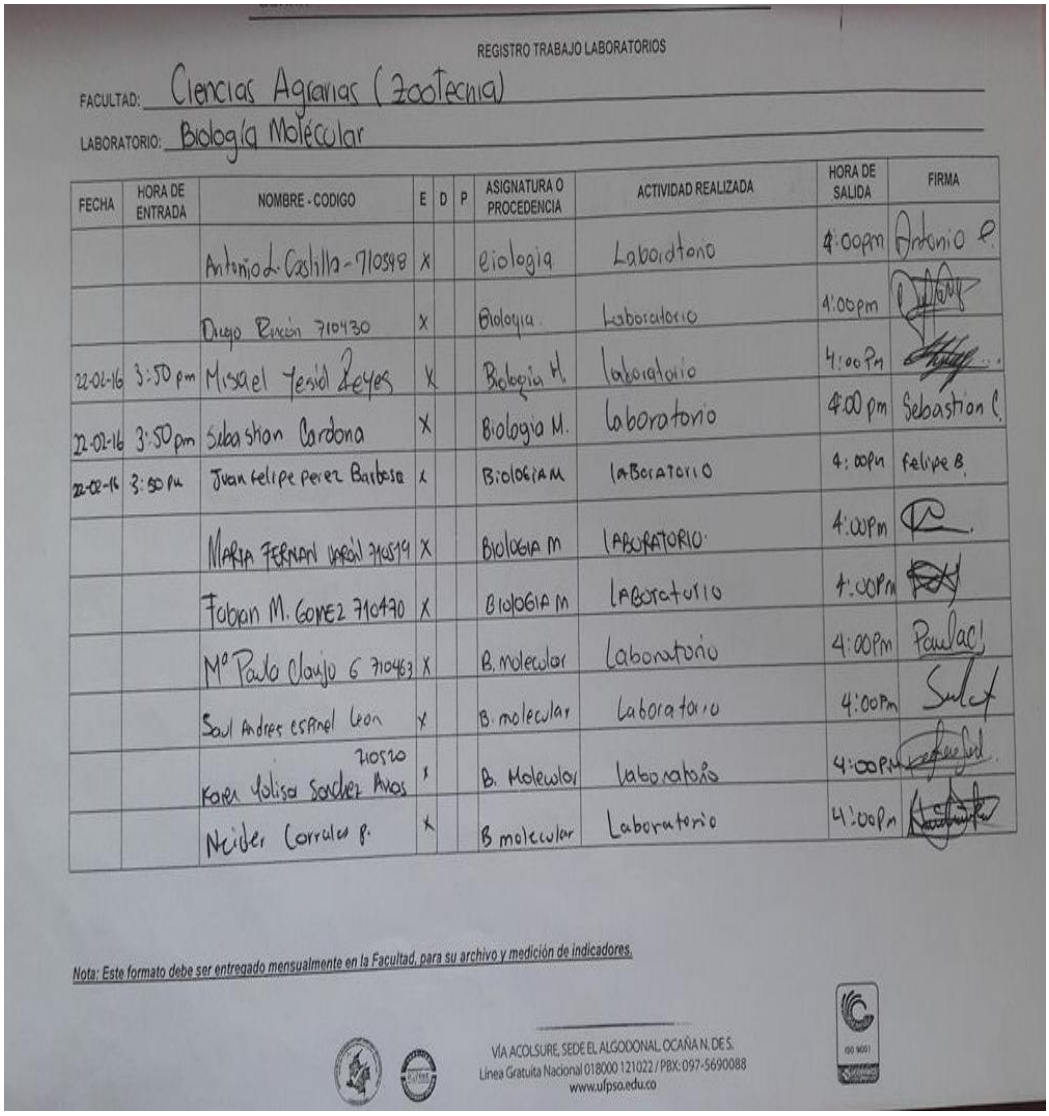
3.2 Accesorios:

3.3 Otra información adicional:

VÍA ACOLSURE, SEDE EL ALGODONAL, OCAÑA N. DE S.
Línea Gratuita Nacional 018000 121022 / PBX: 097-5690088
www.ufpso.edu.co

Observación. La imagen anterior es un ejemplo de uno de los formatos implementados en el laboratorio de biología molecular, el conjunto completo de ellos se almacenan impresos en las instalaciones del laboratorio.

Apéndice 7. Formato de control de ingreso de personal.



REGISTRO TRABAJO LABORATORIOS

FACULTAD: Ciencias Agrarias (Zootecnia)

LABORATORIO: Biología Molécular

FECHA	HORA DE ENTRADA	NOMBRE - CODIGO	E	D	P	ASIGNATURA O PROCEDENCIA	ACTIVIDAD REALIZADA	HORA DE SALIDA	FIRMA
		Antonio L. Castilla - 710548	X			Biologia	Laboratorio	4:00pm	Antonio P.
		Diego Rincon 710430	X			Biologia	Laboratorio	4:00pm	
22-02-16	3:50 pm	Misael Yesid Reyes	X			Biologia H.	Laboratorio	4:00 Pm	
22-02-16	3:50 pm	Sebastian Cardona	X			Biologia M.	Laboratorio	4:00 pm	Sebastian C.
22-02-16	3:50 Pm	Juan Felipe Perez Barbosa	X			BIOLOGIA M	LABORATORIO	4:00pm	Felipe B.
		MARIA FERNANDA BARÓN 710519	X			BIOLOGIA M	LABORATORIO	4:00Pm	
		Fabian M. Gomez 710470	X			BIOLOGIA M	LABORATORIO	4:00Pm	
		Mª Paula Olaya G 710463	X			B. molecular	Laboratorio	4:00Pm	Paula C.
		Saul Andres espinel Leon	X			B. molecular	Laboratorio	4:00Pm	Saul
		Karen Yolisa Sanchez Anos 710520	X			B. Molecular	Laboratorio	4:00Pm	
		Neider Carrillo P.	X			B molecular	Laboratorio	4:00Pm	

Nota: Este formato debe ser entregado mensualmente en la Facultad, para su archivo y medición de indicadores.

VÍA ACOLSURE, SEDE EL ALGODONAL, OCAÑA N. DE S.
Línea Gratuita Nacional 018000 121022 / PBX: 097-5690088
www.ufpso.edu.co

Observación. El formato original correspondiente al control de ingreso de personal al laboratorio que se llevó durante el primer semestre del año 2016 se encuentra en el laboratorio de biología molecular.

Apéndice. 8. Precipitación de ADN con etanol.



PRECIPITACIÓN DE ADN CON ETANOL.

El ADN puede ser precipitado fuera de la solución por la remoción de sales y/o por re-suspensión en un buffer alternativo. Ya sea etanol o isopropanol pueden ser usados para lograr su propósito; sin embargo se prefiere el uso de etanol.

Materiales.

Es esencial que consulte las fichas de datos de seguridad de materiales apropiadas y la Oficina de Salud y Seguridad Ambiental de su institución para el manejo adecuado de los equipos y materiales peligrosos utilizados en este protocolo.

Las prescripciones de los reactivos específicos para este protocolo, marcadas <R>, estas provistas al final de este. Ver el apéndice 1 de fórmulas comúnmente utilizadas en el inventario de soluciones, buffers y reactivos, marcados con <A>. Diluir las soluciones del inventario en las concentraciones apropiadas.

Reactivos.

- Portador (levadura ,RNA, glicógeno, o poliacrilamida lineal) (ver tabla 2) (opcional ver paso 3)
- Muestra de ADN.
- Etanol (95% refrigerado; 70%)
- Isopropanol (opcional; ver paso 9)

Observación. La versión original de los protocolos en los cuales se aplican las técnicas de biología molecular y las guias de laboratorio, correspondientes a los anexos del 8 al 20, desarrolladas totalmente se almacenan impresas en el laboratorio de biología molecular.

Apéndice 9. Precipitación de ADN con isopropanol.

Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña - Colombia
NIT. 800 163 130 - 0

PRECIPITACIÓN DE ADN CON ISOPROPANOL.

El ADN es menos soluble en soluciones que contienen isopropanol que etanol. En contraste a la precipitación con etanol, el cual requiere 2 a 3 volumen de alcohol, la precipitación con isopropanol se realiza con 0.6 – 0.7 volumen de alcohol. El isopropanol a menudo es la mejor opción cuando se precipitan grandes ADN a partir de grandes volúmenes de solución.

Materiales. Es esencial que consulte las fichas de datos de seguridad de materiales apropiadas y la Oficina de Salud y Seguridad Ambiental de su institución para el manejo adecuado de los equipos y materiales peligrosos utilizados en este protocolo.

Las prescripciones de los reactivos específicos para este protocolo, marcadas <R>, estas provistas al final de este. Ver el apéndice 1 de fórmulas comúnmente utilizadas en el inventario de soluciones, buffers y reactivos, marcados con <A>. Diluir las soluciones del inventario en las concentraciones apropiadas.

Reactivos.

- Muestra de ADN.
- Etanol.
- Isopropanol.
- Acetato de Sodio (3 M, pH 5.2).
- TE (pH 8.0) <A>

Equipos.

- Sistema aspirador de vacío equipado con trampas.

Apéndice 10. Concentración de ácidos nucleicos por extracción con butanol

Universidad
Francisco de Paula Santander
Ocaña - Colombia
NIT. 800 163 130 - 0

CONCENTRACIÓN DE ACIDOS NUCLEICOS POR EXTRACCIÓN CON BUTANOL.

Durante la extracción de soluciones acuosas con solventes tales como alcohol butílico secundario (isobutanol) o n-alcohol butanol (n-butanol), una proporción de moléculas de agua es dividida en la fase orgánica. Los ácidos nucleicos permanecen en la fase acuosa. Para realizar varios ciclos secuenciales de extracción, el volumen de la solución del ácido nucleico puede ser reducido significativamente. Este método de concentración puede ser usado para reducir el volumen de las soluciones diluidas al punto que los ácidos nucleicos pueden ser recuperados fácilmente por precipitación con etanol.

Materiales. Es esencial que consulte las fichas de datos de seguridad de materiales apropiadas y la Oficina de Salud y Seguridad Ambiental de su institución para el manejo adecuado de los equipos y materiales peligrosos utilizados en este protocolo.

Reactivos.

- Muestras de ADN.
- Isobutanol.

Método.

1. Mida el volumen de las soluciones de ácidos nucleicos, y agregue un volumen igual de isobutanol (a 25°C). Mezcle muy bien y suavemente las fases. / Adicionar demasiado

Apéndice 11. Aislamiento de ADN de alto peso molecular usando solventes orgánicos (Fenol: cloroformo) para purificar ADN.

Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña - Colombia
NIT. 800 163 130 - 0

Aislamiento de ADN de alto peso molecular usando solventes orgánicos (fenol: cloroformo para purificar ADN.

EXTRACCIÓN CON El método estándar para remover proteínas de soluciones de ácidos nucleicos es primero la extracción con fenol: cloroformo (opcionalmente contiene hidroxiquinolina al 0.1%) y luego con cloroformo. Este proceso tiene la ventaja de que la desproteinización de hecho es más eficiente cuando dos solventes orgánicos diferentes son usados en lugar de uno. Por otra parte, aunque la desnaturalización de proteínas con fenol es eficiente, no inhibe completamente la actividad de la ribonucleasa, y es un solvente para moléculas de RNA que contienen largos tractos de poly (A) (Brawerman et al. 1972). Ambos de estos procesos pueden ser evitados usando una mezcla de fenol: cloroformo: alcohol isoamílico (25:24:1). La extracción subsecuente con cloroformo remover cualquier rastro persistente de fenol a partir de la preparación de ácidos nucleicos. La extracción con éter, fue ampliamente usado para estos propósitos por muchos años, pero ya no es requerido o recomienda para la rutina de purificación con ADN.

Tabla 1. Enzimas proteolíticas.

	"concentración" de solución	Almacenamiento de temperatura	Concentración en la reacción	Reacción buffer	T°C	Pre-tratamiento
Pronasa[e]	20 mg/mL en agua.	- 20°C	1 mg/mL	0.01 m Tris-Cl (pH 7.8) 0.01 M EDTA 0.5% SDS	37°C	Autodigestión?
Proteinasa K	20 mg/mL en agua.	- 20°C	50 µg/mL	0.01 M Tris-Cl (pH 7.8) 0.005 M EDTA 0.5% SDS	37°C – 56°C	No requiere.

Apéndice 12. Aislamiento de ADN de bacterias gram negativas (ej., E. coli).

Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña - Colombia
NIT. 800 163 130 - 0

PROTOCOLO 3. AISLAMIENTO DE ADN DE BACTERIAS GRAM NEGATIVAS (ej., E. coli).

El aislamiento de ADN de una bacteria, descrito en este protocolo, se basa en el uso de SDS y proteinasa K para hacer lisis de las células. El ADN es una molécula de alto peso molecular que es cortada (para reducir la viscosidad y hacerla más manejable), extraído con fenol: cloroformo, y precipitado con isopropanol. El ADN que puede aislarse de acuerdo a estos rangos de procedimientos va desde 30 a 80 kb de longitud.

Materiales. Es esencial que consulte las fichas de datos de seguridad de materiales apropiadas y la Oficina de Salud y Seguridad Ambiental de su institución para el manejo adecuado de los equipos y materiales peligrosos utilizados en este protocolo.
Las prescripciones de los reactivos específicos para este protocolo, marcadas <R>, estas provistas al final de este. Ver el apéndice 1 de fórmulas comúnmente utilizadas en el inventario de soluciones, buffers y reactivos, marcados con <A>. Diluir las soluciones del inventario en las concentraciones apropiadas.

Reactivos.

- Acetato de Amonio (5M).
- Cultivo bacteriano (≥1.5mL). El cultivo debe haber sido incubado toda la noche con agitación vigorosa.
- Cloroformo.
- Etanol (70, 95%)
- Isopropanol.

Apéndice 13. Aislamiento del ADN de alto peso molecular de células de mamíferos usando proteinasa k y fenol.

Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña - Colombia
NIT. 800 163 130 - 0

Aislamiento del ADN de alto peso molecular de células de mamíferos usando proteinasa k y fenol.

Este proceso se deriva de un método originalmente descrito por Darly Stafford y colegas (Blind y Stanfford 1976). Este es un método de elección cuando se requieren grandes cantidades de ADN de mamíferos, por ejemplo para Southern blottig. Aproximadamente 200 µg de ADN de mamíferos, 100-150 kb en longitud, es obtenido a partir de $5x10^7$ de células aneploides cultivadas (ej. células HeLa). El rendimiento usual de ADN a partir de la capa leucocitaria de linfocitos aislados de 20 mL de sangre es ~250 µg. Todo el material enlistado debajo es requerido para la purificación de ADN genómico de mamíferos, independientemente del tipo de la muestra. Adicionar materiales que son necesarios para tipos particulares de muestras que se enumeran bajo los subtítulos para los 4 métodos: crecimiento de células en monocapas, lisis de células que crecen en suspensión, lisis de tejidos simples y lisis de células sanguíneas recién extraídas o refrigeradas.

Materiales.

Tejidos de primates y cultivos de células primarias requiere precauciones especiales para su manejo.

Reactivos.

- Gel de agarosa (0.6%)
- Acetato de amonio (10 M) (opcional ver paso 9)
- Bacteriófago / ADN o marcas comerciales disponibles de ADN en rango de 10 – 100 kb.

Apéndice 14 Preparación de ADN genómico de pequeñas muestras de tejido (cola de ratón) y protocolos alternativos.

Universidad
Francisco de Paula Santander
Ocaña - Colombia
NIT. 800 163 130 - 0

Preparación de ADN genómico de colas de ratón y otras pequeñas muestras.

Todos estos experimentos realizados en ratones de laboratorio, incluyendo la remoción de secciones de cola, requieren previa autorización de las instituciones apropiadas de comités de ética.

Materiales. Es esencial que consulte las fichas de datos de seguridad de materiales apropiadas y la Oficina de Salud y Seguridad Ambiental de su institución para el manejo adecuado de los equipos y materiales peligrosos utilizados en este protocolo.

Reactivos.

- Etanol (70%).
- Isopropanol.

Colas de ratones o tejidos de ratones.

- cloroformo.
- Fenol: cloroformo: alcohol isoamilico (25.24:1, v/v)
- Buffer salino- fosfato (PBS) <A>, refrigerado (opcional, ver paso 1)
- Proteinasa K (20 mg/$_m$L)
- SNET <R>
- TE ($_p$H 8.0) <A>

EQUIPOS.

- Centrifuga y rotor de velocidad media y baja.
- Tubos de polipropileno (17 x 100 mm)
- Plataforma rocking a temperatura ambiente y 4°C
- Plataforma rocking o incubador shaking, programado a 55°C

Apéndice 15. Aislamiento rápido de ADN genómico de levaduras.

Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña - Colombia
NIT. 800 163 130 - 0

Aislamiento rápido de ADN genómico de levaduras.

Este método es usado para aislar ADN genómico de levaduras o plásmidos de lanzadera que se replican tanto en *Saccharomyces cerevisae* y en *E. coli.*

Reactivos.

- Etanol (70%, 95%)
- Fenol: cloroformo (1.1, v/v)
- Acetato de sodio (3 M, pH 5.2)
- Buffer STES <R>
- TE (pH 7.6) <A>
- Células de levadura, recién crecidas ya sea de colonias o en una placa de agar o como un cultivo nocturno.

Equipos.

- Acido para lavar rosarios de vidrio (0.4-mm de diámetro)
- Asa de siembra estéril (opcional, ver paso 1)

METODO

1. Preparar las células de levadura para lisis, por colonias de levaduras en placas.

i. Use un asa de siembra estéril para transferir una o más colonias grandes, recién crecidas a un tubo microcentrifuga que contenga 50 µL de buffer STES.

Para crecimiento de levaduras en cultivos líquidos.

i. Transferir 1.5 mL de un cultivo de células de levaduras nocturno a un tubo microcentrifuga.

Apéndice 16. Cuantificación de ADN genómico, uso de bromuro de etidio para estimar la concentración cualitativa de ADN, en bandas después de electroforesis a través de minigeles.

Universidad
Francisco de Paula Santander
Ocaña - Colombia
NIT. 800 163 130 - 0

Cuantificación de ADN genómico, uso de bromuro de etidio para estimar la concentración cualitativa de ADN, en bandas después de electroforesis a través de minigeles.

Este breve protocolo describe una forma rápida para medir la cantidad de ADN y análisis del estado físico al mismo tiempo. Las bandas de ADN que contienen > 5 ng de ADN pueden ser detectadas por transiluminación de minigel de agarosa, gel teñido con bromuro de etidio e iluminado con luz UV. Las cantidades de ADN en una muestra desconocida son estimadas comparando la intensidad de la imagen capturada por cámara CCD, con las imágenes obtenidas de un set de patrones que contienen una cantidad conocida de ADN. Los análisis de geles teñidos describen una forma rápida para medir la cantidad de ADN y análisis del estado físico.

Colorante SYBR también puede ser usado para teñir y cuantificar aproximadamente las cantidades de ADN en bandas de geles. Algunos, colorantes diferentes al bromuro de etidio, SYBR pueden ser usados solo por tinción post-electroforetica. Generalmente el gel es inmerso en una solución que contiene el colorante por menos de una hora, los cuales no siempre son convenientes para experimentos.

Reactivos.

- Minigel de agarosa (0.6%) que contiene bromuro de etidido (0.5 µg/ mL).
- Muestra de ADN.
- Patrones de ADN (VER PASO 2)
- Buffer de electroforesis (Usualmente 1 x TAE <A> o 0.5 x TBE <A>)
- Buffer carga de gel IV <A>

Apéndice 17. Guía de normas de bioseguridad.

Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña - Colombia
NIT. 800 163 130 - 0

GUÌA DE LABORATORIO DE BIOLOGÌA MOLECULAR
PRÀCTICA N° 1
NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Juliana Andrea Cuetia Londoño
Myriam Helena Arcos Jiménez
Laboratorio de Biologia Molecular

Introducción

Las normas de bioseguridad son un aspecto importante cuando se va a desarrollar cualquier práctica de laboratorio (protocolos, preparación de soluciones, etc.), se hacen necesarias para evitar accidentes que perjudiquen la integridad física de la o las personas presentes en el laboratorio, o cualquier tipo de contaminación cruzada de las muestras a procesar. Los equipos y reactivos de uso frecuente en el laboratorio de biología molecular son, generalmente, tóxicos, oxidantes, neurotóxicos, cancerígenos, inflamables, irritantes y mutagénicos. (politecnicojic, 2012)

El laboratorio debe ser un lugar seguro para trabajar, donde no se deben permitir descuidos e indisciplina. Por lo que se hace necesario implementar las siguientes normas de bioseguridad:

I. Zonificación.

Delimitar áreas de trabajo con el objetivo de:

- Evitar contaminaciones cruzadas de las muestras a procesar, alteraciones en los resultados finales y degradación de las muestras.
- Reconocimiento de las áreas para preparación de material, de soluciones, de extracción de ácidos nucleicos, amplificación y electroforesis.
- Ubicación rápida de implementos, equipos y reactivos.

En un laboratorio de biología molecular se debe contar con al menos cuatro áreas físicamente separadas, destinadas a los siguientes procedimientos:

a. Area de extracción de ácidos nucleicos.
b. Area de preparación de reacciones en cadena de la polimerasa (PCR's).
c. Area de preparación de PCR's con transcripción inversa (RT-PCR's).
d. Area post-PCR o de manipulación de productos de PCR.

Además, se debe garantizar el balance del flujo de aire, con el propósito de dirigir su circulación de áreas limpias (preparación de RTPCR), hacia áreas de menor riesgo (área de preparación de PCR's convencionales) y finalmente hacia áreas contaminadas (área de termocicladores, de

Apéndice 18. Guía de equipos básicos del laboratorio de biología molecular.

Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña - Colombia
NIT. 800 163 130 - 0

GUÌA DE LABORATORIO DE BIOLOGÌA MOLECULAR
PRÀCTICA N° 2
EQUIPOS BÀSICOS DE LABORATORIO DE BIOLOGÌA MOLECULAR.

Juliana Andrea Cuetia Londoño
Myriam Helena Arcos Jiménez
Laboratorio de Biología Molecular

Introducción.

Un laboratorio de biología molecular debe contar con determinados equipos que son esenciales para la realización de experiencias fundamentales con muestras de DNA, RNA, proteínas, etc; estos elementos de trabajo deberán estar en condiciones adecuadas de calibración y funcionamiento para el éxito de las prácticas pedagógicas e investigativas que se realicen. Algunos de estos equipos se describen a continuación: (Lopez Lopez & Vaca Vaca, 2011)

I. Agitador magnético.

Mezcla soluciones y disuelve sólidos en medio líquidos. Utiliza una barra magnética o barra de agitación que se desliza en un matraz o vaso de precipitado que contiene las soluciones a mezclar o el sólido a disolver, el contenedor es puesto encima de la placa donde el campo magnético rotatorio ejerce su influencia sobre la barra de agitación y propicia su rotación. A demás cuenta con un regulador de velocidad de la magneto que permite disminuir o aumentar la velocidad de agitación. El agitador magnético heidolph es de agitación rápida y eficiente, con un amplio rango de velocidad: hasta 2.200 rpm, además mezcla eficazmente muestras de hasta 5 litros. (heidolph, 2016) (Lopez Lopez & Vaca Vaca, 2011)

Algunos equipos cuentan con regulador de temperatura que permite calentar algunas soluciones que requieren la aplicación de calor (90°C). Estos equipos son útiles para preparar soluciones de trabajo, regular pH y disminuir el riesgo de contaminación al eliminar la necesidad de agitar físicamente un líquido. (tp laboratorio quimico, 2016)

II. Autoclave.

Sirve para esterilizar material de laboratorio, utilizando vapor de agua a alta presión (calor

***Apéndice 19*. Guía de micropipetas, uso y calibración.**

Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña - Colombia
NIT. 800 163 130 - 0

GUÍA DE LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR
PRÀCTICA N° 3
MICROPIPETAS USO Y CALIBRACIÒN.

Juliana Andrea Cuetia Londoño
Myriam Helena Arcos Jiménez
Laboratorio de Biología Molecular

Introducción

La biotecnología aplicada al estudio genómico requiere exactitud y precisión con las medidas de volúmenes que se deban trabajar, estas comúnmente son micrométricas a nivel de microlitros, es por ello que el uso de las micropipetas se convierte en una rutina dentro del laboratorio, ya que es el instrumento más adecuado para absorber y trasferir pequeñas volúmenes de líquido medidos con gran precisión. (Area de Bioquímica y Biología Molecular Departamento de Biología Experimental, 2016) (Lopez Lopez & Vaca Vaca , 2011)

Las micropipetas pueden estar diseñadas para cargar volúmenes fijos o variables, desde 0.1 µL hasta 5000 µL y pueden diferenciarse en simples (con un solo canal de carga), o en multiples. (Area de Bioquímica y Biología Molecular Departamento de Biología Experimental, 2016)



Figura 1. Manejo de micropipetas.

Fuente. Universidad de Jaen

Las micropipetas pueden tener diferentes diseños, pero en la mayoría se pueden distinguir los siguientes elementos:

apéndice 20. Guía de extracción de ADN de tejidos vegetales.

Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña - Colombia
NIT. 800 163 130 - 0

GUÍA DE LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR
PRÁCTICA Nº 4
EXTRACCIÓN DE ADN DE TEJIDOS VEGETALES.

Juliana Andrea Cuetia Londoño
Myriam Helena Arcos Jiménez
Laboratorio de Biología Molecular

Introducción.

El ácido desoxirribonucleico (ADN) fue identificado inicialmente en 1868 por Friedrich Miescher en el núcleo de células, asignando el nombre de nucleína. Más adelante, Frederick Griffith en 1928, sentó las bases para la identificación del ADN como material genético con sus experimentos en la transformación de bacterias denominada neumococo, ahora conocida como Streptococcus pneumoniaes y, en 1944 Oswald Avery, Colin, MacLeod, y Maclyn McCarty, descubrieron que el DNA es el material de los genes y los cromosomas. (Weaver, 2012)

El ADN es un polímero que guarda la carga genética de las células existentes en los seres vivos y la información para la síntesis de proteínas, fundamental para el desarrollo y funcionamiento de los organismos vivos. Su estructura se caracteriza por ser una doble cadena de bases complementarias formada cada una por nucleótido y estos por una base de pirmidina o purina, una azúcar desoxirribosa y un grupo fosfato. (TIPOS, s.f.)
Existen diferentes tipos de ADN, pero el objetivo de este laboratorio es el ADN cromosómico que es la materia prima de los cromosomas y es el material del que los genes están formados. (I.E.S., Juana de Pimentel, 2006)

Su ubicación en la célula varía dependiendo del tipo de célula, es decir, en las células eucariotas el ADN se encuentra dentro del núcleo celular y en las procariontes en el citoplasma (TIPOS, s.f.). Los estudios biomoleculares comienzan con la extracción de los ácidos nucleicos los cuales necesitan ser aislados de proteínas y otros componentes celulares para su posterior análisis pero, como extraer ADN de un animal es un proceso relativamente tedioso y costoso, para la experiencia de laboratorio lo extraeremos de algunos vegetales de forma clásica. (Murguía, 2015) (University of UTAH Health Sciences, 2016)

Objetivos