



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD
UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD DEPARTAMENTO EL
HOMBRE Y SU AMBIENTE LICENCIATURA EN BIOLOGÍA.

**Técnicas de biología molecular aplicadas al estudio de la
fisiología en ratones transgénicos.**

Presenta la alumna:

YOSELYN ALEJANDRA COVARRUBIAS MORENO

Matrícula: 2202035865

Asesor Externo: Dra. María Chávez Canales

Asesor Interno: Rafael Bojalil Parra

19 de agosto del 2025

Contenido

1. Resumen
2. Introducción
3. Lugar de realización
4. Marco institucional
5. Objetivo del programa del servicio social
6. Descripción específica de las actividades desarrolladas
7. descripción específica de las actividades desarrolladas
8. Descripción del vínculo de las actividades desarrolladas con los objetivos de formación del plan de estudio
9. Referencias bibliográficas
10. Visto bueno de asesores

Resumen

El presente trabajo aborda el uso de técnicas de biología molecular aplicadas al análisis fisiológico en ratones transgénicos, con el fin de profundizar en la comprensión de los mecanismos genéticos que regulan procesos fisiológicos complejos. Gracias al avance de herramientas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la electroforesis en gel de agarosa ha permitido estudiar la expresión génica y su implicancia en patologías humanas.

Durante el desarrollo de las técnicas se llevaron a cabo diversas actividades experimentales. En primer lugar, se aplicaron técnicas de pipeteo con micropipetas para manejar con precisión volúmenes pequeños, garantizando la calidad de los resultados. Asimismo, se prepararon soluciones molares, diluciones y reactivos esenciales mediante cálculos precisos, fundamentales en cualquier procedimiento químico o biológico.

La técnica de PCR se utilizó para amplificar secuencias específicas de ADN, permitiendo detectar genes de interés en muestras biológicas.

En conjunto, estas técnicas representan herramientas esenciales en la investigación biomédica, fortaleciendo la capacidad de análisis genético y molecular para el estudio de enfermedades y el desarrollo de nuevas terapias.

Introducción

El avance de la biología molecular ha revolucionado la investigación biomédica, permitiendo una comprensión más profunda de los mecanismos que regulan la fisiología de los organismos. El uso de ratones transgénicos se ha consolidado como una herramienta clave para el estudio funcional de genes específicos y su implicación en procesos fisiológicos complejos.

Gracias a la aplicación de técnicas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la electroforesis en gel, y, es posible estudiar rutas metabólicas o analizar la regulación génica en tejidos específicos. Estos enfoques permiten vincular la expresión génica con efectos fisiológicos, facilitando la comprensión de patologías humanas y el desarrollo de nuevas terapias.

En este trabajo, se explorarán las principales técnicas de biología molecular empleadas en el análisis fisiológico de ratones transgénicos, destacando su importancia en la investigación biomédica.

Lugar de realización

Laboratorio de Fisiología Experimental, Unidad de Investigación del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, ubicado dentro del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, Ciudad de México.

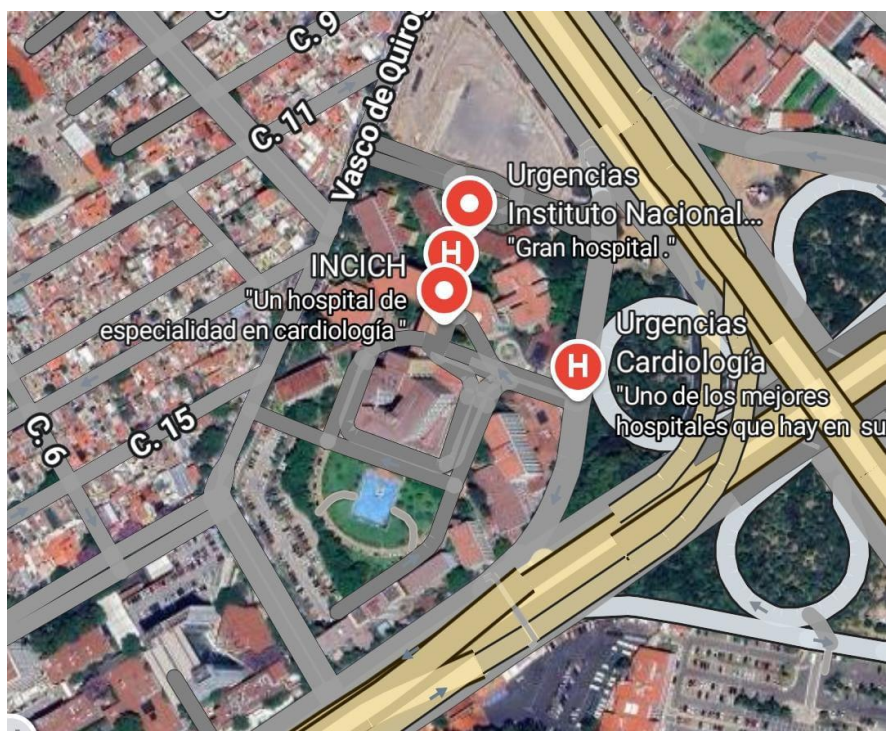


Figura 1. Mapa de la ubicación geográfica del Laboratorio de Fisiología Experimental.

Marco institucional

La misión: Estudiar de fenómenos biológicos y biomédicos en los niveles molecular, bioquímico, celular, orgánico y poblacional, para contribuir con este conocimiento al desarrollo científico, y a la enseñanza y difusión de la ciencia en nuestro país con miras a un desarrollo mundial saludable.

La visión: Ser líderes en la generación de conocimiento en su área, tanto dentro como fuera de la UNAM, a nivel nacional e internacional. Fomentar un vínculo entre la

investigación científica de alta calidad y la atención en salud en institutos, universidades y centros tecnológicos. Formar investigadores de primer nivel en el área biomédica.

Objetivo General

Impulsar y promover las ciencias biomédicas en la UNAM y en México, mediante la generación de conocimiento de manera integral e interdisciplinaria, así como; la formación de recursos humanos especializados en el área, y la vinculación de la ciencia con la resolución de problemas nacionales, relacionados con actividades científicas, intelectuales y productivas del país.

Objetivos Específicos

- Colaborar en la preparación de soluciones y manejo de equipos de laboratorio.
 - Comprender las técnicas de lisis, PCR y electroforesis.
 - Obtener buen manejo de los animales en bioterio.
-

Descripción específica de las actividades desarrolladas

El servicio social se llevó a cabo en un periodo de seis meses, con una duración total de 480 horas, a cargo de la Dr. María Chávez Canales, con el fin de cumplir los objetivos planteados, realizando actividades prácticas en el laboratorio, llevando a cabo las siguientes actividades.

Técnica de pipeteo

Con esta herramienta se pueden absorber líquidos, de modo que brinda una elevada flexibilidad y consigue así aplicarse en diferentes ámbitos. El uso correcto de micropipetas es fundamental para el trabajo con volúmenes pequeños. Se practican aspectos clave como la calibración, precisión, y técnicas estériles para evitar la contaminación de muestras. Esta habilidad es esencial en cualquier procedimiento de biología molecular.

Manejo de animales de bioterio

Se llevó a cabo un curso para el manejo de ratones en el cual nos enseñaron desde como tomar el ratón, inyectarlos y tener buena limpieza en el bioterio, para tenerlos en buen estado.



Figura 2. Bioterio del Laboratorio de Fisiología Experimental.

Preparación de soluciones molares, peso/volumen y diluciones

El cálculo de preparación de soluciones desde soluto puro es fundamental en química analítica, industrial y laboratorial. Esta metodología abarca el ajuste preciso de las variables masa, volumen, concentración y densidad del soluto, permitiendo alcanzar la especificidad requerida para diversos análisis y síntesis químicas.

El proceso de preparación de soluciones involucra diversas magnitudes físicas son:

Las variables fundamentales son:

m: Masa del soluto (en gramos, g).

V: Volumen de la solución final (en litros, L o en mililitros, mL).

C: Concentración deseada de la solución, que puede expresarse en g/L o en M (mol/L).

n: Número de moles, el cual se relaciona con la masa y el peso molecular.

M: Masa molar del soluto (g/mol).

d: Densidad del soluto líquido (g/mL), aplicable únicamente para solutos en fase líquida.

En laboratorio se llegaron a realizar ciertas soluciones como:

- TBS 1X
- TAE 1X
- TBS 1X + TWEEN 0.2%
- Tris HCL
- PBS 1X

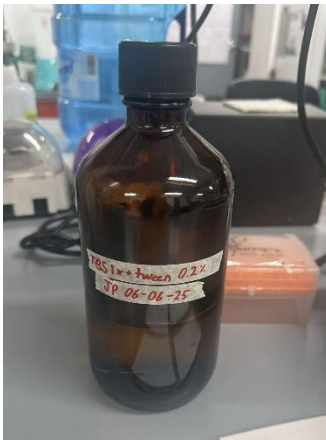


Figura 3. TBS 1X + TWEEN 0.2%

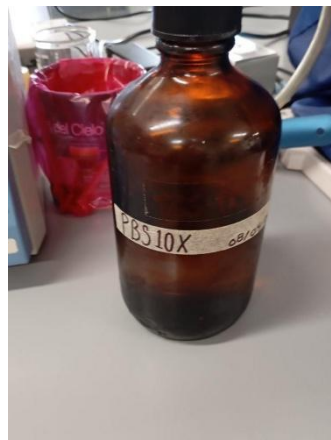


Figura 4. PBS 10x

Lisis de DNA

La lisis de DNA se refiere al proceso mediante el cual el material genético se libera debido a la ruptura de la membrana celular, liberando el contenido genético, Esta actividad se llevó a cabo con biopsias de ratones transgénicos.

Una vez recibidas las biopsias de cola provenientes del bioterio. A cada tubo con una muestra de biopsia, se le añadieron 125 μL de NaOH 100 mM. Las muestras fueron incubadas a una temperatura entre 85 y 95 $^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos.



Figura 5. Termoblock.

Los tubos fueron retirados y dejándolos reposar a temperatura ambiente durante unos minutos para permitir su enfriamiento parcial, posteriormente, se agitaron en el vórtex por unos segundos, para que se deshiciera con más facilidad la biopsia.

Después se llevaron las muestras a Centrifugar por 2 min a 10,000 con el fin de llevar el líquido al fondo del tubo. Posteriormente a cada muestra se le añadieron 150 μL de Tris-HCl 0,17 M, pH 8. se volvieron a agitar en el vórtex y a centrifugar nuevamente 2 min a 10,000 rpm.

Del sobrenadante se tomaron 2 μL como muestra para la reacción de la PCR, ajustando el volumen y dilución según el gen a analizar.

PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa)

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica de laboratorio utilizada para amplificar secuencias de DNA. El método utiliza secuencias cortas de DNA, llamadas *primers* o cebadores, para seleccionar la parte del genoma a amplificar. La temperatura de la muestra se incrementa y decrementa repetidamente para ayudar a la DNA polimerasa a duplicar la secuencia del DNA que está siendo copiado. Con esta técnica se pueden producir millones de copias de la secuencia en estudio en sólo unas pocas horas (NIH, 2022).

Para llevar a cabo la PCR, primero se tenía que preparar un (master mix) el cual se preparaba con Buffer 5x, dNTPs, $MgCl_2$, Primers, Taq, H₂O y el DNA, posteriormente se mezclaba suavemente (vórtex) y centrifuga brevemente para llevar el líquido al fondo.

Se tenía que programar (dependiendo el interés) el termociclador para introducir los tubos, una vez que terminaba el termociclador, se necesitaba preparar un gel de agarosa (al porcentaje y tamaño necesario), para poder comenzar con la electroforesis.

La electroforesis es una técnica empleada para separar biomoléculas en función de su movilidad y características fisicoquímicas, como carga y tamaño, dentro de un campo eléctrico. Generalmente, se aplica al análisis de ácidos nucleicos o proteínas, utilizando matrices específicas según el tipo de molécula: agarosa para ácidos nucleicos y poliacrilamida para proteínas. Esta metodología es una herramienta esencial en el análisis cuantitativo y cualitativo en múltiples disciplinas de las ciencias biológicas, especialmente en biología molecular.

El fundamento de la técnica radica en la aplicación de uno o más campos eléctricos en direcciones perpendiculares durante intervalos de tiempo controlados. Esto permite modificar la orientación de las moléculas de ADN, dirigiéndolas a distintas trayectorias dentro del gel. El tamaño molecular influye directamente en el tiempo requerido para su reorientación: las moléculas más grandes necesitan más tiempo para cambiar de dirección, mientras que las más pequeñas responden más rápidamente al cambio de campo eléctrico.

Una vez que se termina la electroforesis, se lleva el gel bajo luz UV, para revisar los resultados.

Descripción del vínculo de las actividades desarrolladas con los objetivos de formación del plan de estudios

La realización de este servicio social permitió la aplicación práctica de técnicas fundamentales en biología molecular orientadas al análisis fisiológico en modelos murinos transgénicos. A lo largo del proyecto se emplearon metodologías como la PCR, la electroforesis en gel de agarosa, la inmunofluorescencia y la lisis celular para la extracción de DNA genómico, permitiendo la detección y análisis de genes específicos asociados a procesos fisiopatológicos.

Asimismo, se desarrollaron el manejo preciso de micropipetas, preparación de soluciones químicas con distintos parámetros de concentración, y técnicas de trabajo estéril, esenciales para la integridad de los experimentos. La capacitación en el manejo

de animales en bioterio garantizó el cumplimiento de buenas prácticas en experimentación animal, asegurando condiciones óptimas para los procedimientos.

En conjunto, estas actividades contribuyeron significativamente a la formación técnica en biología molecular aplicada, fortaleciendo la capacidad para analizar mecanismos genéticos complejos en modelos experimentales y consolidando una base sólida para futuras investigaciones en el ámbito biomédico.

Bibliografía

Cole, K. D., & Tellez, C. M. (2002). Separation of large circular DNA by electrophoresis in agarose gels. *Biotechnology progress*, 18(1), 82-87

Escalona, R., J., Mendoza, X., A., Novo, L., R. (2021). Soluciones y cálculos de concentración. *Unidades de Apoyo para el Aprendizaje*. CUAIEED/Facultad de Medicina-UNAM.

González, L., López, R., Domínguez, M. y Gutiérrez, A. (2022). Reacción en cadena de la polimerasa. *Unidades de Apoyo para el Aprendizaje*. CUAIEED/FES Cuautitlán-UNAM. https://repositoriouapa.cuaed.unam.mx/repositorio/moodle/pluginfile.php/2162/mod_resource/content/8/contenido/index.html

Ighetti, P. G. (2005) ELECTROPHORESIS | Two-Dimensional Gels. In *Encyclopedia of Analytical Science* (3rd ed.).

National Human Genome Research Institute (2025) Reaccion en cadena de la polimerasa (PCR).

NIH/National Human Genome Research Institute. (2022). *Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)*. <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Reaccion-en-cadena-de-la-polimerasa>

Santillán M.J.L. (2003). Cálculos Químicos para la Preparación de Soluciones (México: Trillas 2003).

Umbarila, X. (2012). Fundamentos teóricos para el diseño y desarrollo de unidades didácticas relacionadas con las soluciones químicas. *Revista de Investigación*, 36(76), 133-157. Recuperado el 25 de Febrero de 2021 de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=3761/376140391007>

