

---

---

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

CONCLUSIÓN DEL SERVICIO SOCIAL  
POR ACTIVIDADES RELACIONADAS A LA PROFESIÓN

**Manejo y técnicas de laboratorio de fisiología experimental con  
ratones transgénicos.**

QUE PRESENTA LA ALUMNA:

**Karla Paola Escamilla Tapia**

Matrícula

2193031651

ASESORES

Asesor interno: Rafael Bojalil Parra (No. Económico: 24073).

Dirección de Apoyo a la Investigación. UAM.



---

Firma

Asesor externo: María de Jesús Chávez Canales. (No. Cédula: 6925078). Instituto  
de investigaciones biomédicas (INC-UNAM). Laboratorio de fisiología  
experimental.



---

Firma

## Índice

A. Lugar en donde se realizó el servicio .....	3
B. Marco Institucional.....	3-4
C. Objetivo general.....	4
D. Objetivo de las actividades.....	4-5
E. Descripción de las actividades desarrolladas.....	5-9
F. Evidencias.....	
G. Referencias.....	

### A. Ubicación geográfica.

El servicio social se realizará en el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” ubicado en Juan Badiano 1, Belisario Domínguez Secc 16, Tlalpan, 14080 Ciudad de México, CDMX, dentro de la unidad de investigación de la UNAM, en el laboratorio de fisiología celular. Teniendo una duración de seis meses equivalentes a 480 h, durante el periodo trimestral indicado en el calendario UAM en un horario de 2 a 6 pm y en el periodo vacacional de acuerdo con el calendario de la UAM de 8 a 4 pm.

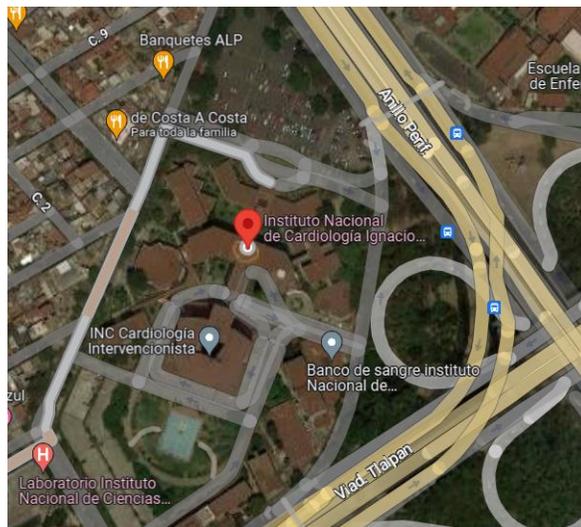


Figura 1. Mapa del Instituto, tomado de Maps (2023).

### B. Marco institucional.

**Misión:** Aliviar las enfermedades cardiovasculares mediante la investigación científica trascendente, educación profesional superior y una atención médica moderna con calidad humanitaria.

**Visión:** Ser líderes y referentes de la cardiología, inspirados en una filosofía de renacimiento de la excelencia científica y la actitud humanitaria.

**Valores:**

- Sensibilidad
- Responsabilidad
- Excelencia
- Respeto
- Honestidad
- Lealtad
- Disciplina
- Cultura

**C. Objetivo general**

Desarrollar habilidades para el manejo de técnicas biológicas moleculares en el bioterio y laboratorio de la unidad de investigación del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez".

**D. Objetivo de las actividades desarrolladas.**

Debido a la pandemia algunas técnicas básicas de laboratorio no las aprendí debido a que no hubo prácticas presenciales. Es por ello por lo que en el servicio social trate de reemplazar la falta de esta experiencia práctica fundamental en mi desarrollo académico al realizar a aprender distintas técnicas. Es por esta razón que asistí al laboratorio de la Dra. Chávez a realizar actividades relacionadas con la biología molecular y no un proyecto de investigación como tal. La ventaja de que asistí a este laboratorio es que se me permitió aprender distintas técnicas que se realizan en el laboratorio y además estar en contacto con la investigación experimental.

Las técnicas que se trabajan en el laboratorio son las siguientes:

- Pipeteo.

- Preparación de soluciones Molares, Normales, de Peso/volumen y diluciones.
- Ajuste de pH.
- Esterotaxia.
- Perfusión para fijar tejidos de animales experimentales.
- Reacción en cadena de la Polimerasa.
- Electroforesis horizontal de DNA.
- Genotipado de ratones.
- Western Blot.
- Inmunoflorescencias.

¿Cómo se relaciona con los módulos vistos durante la carrera y el perfil de egreso?

Las actividades que desarrollé en el Instituto se relacionan con los módulos: II (Procesos celulares fundamentales), III (Energía y consumo de sustancias), V (Historias de vida), VII (Ciclos biogeoquímicos), IX (Producción secundaria). Me podré desempeñar en el sector público, privado y social; en actividades de asesoría y consultoría, así como en investigación y docencia.

#### **E. Descripción de las actividades desarrolladas.**

- Pipeteo.

El pipeteo es una técnica utilizada en los laboratorios para transferir líquidos de un recipiente a otro. Se utiliza una herramienta llamada pipeta, la cual aspira cierta cantidad de un líquido específico de un contenedor para pasar esa cantidad a otro. El trabajo realizado incorrectamente en el laboratorio con la pipeta puede provocar la pérdida de muestras, contaminación, retrasos en los proyectos e incluso daños a los profesionales (CROMTEK, 2023). Generalmente se usa esta herramienta en la biología molecular para cuidar las cantidades y porque son cantidades muy pequeñas, lo cual permite desarrollar nuevos experimentos y técnicas para el futuro.

- Preparación de soluciones Molares, Normales, de Peso/volumen y diluciones.

La preparación de soluciones en los laboratorios de Caracterización y Calidad del Agua y de Operación de Plantas de Tratamiento de Aguas, es un control o herramienta en la calidad de los métodos de prueba que en ellas se realizan; la importancia radica en que una solución que no ha sido preparada con los estándares de calidad puede generar resultados incorrectos en los análisis. Los análisis a desarrollar en cada una de las prácticas de laboratorio de las unidades de aprendizaje mencionadas anteriormente, contienen preparación de soluciones las cuales están establecidas como parte integral de las normas específicas para cada método de prueba, en ellos se establece la forma general de preparación; pero no especifica el procedimiento a detalle en algunos casos, como si debe ser calentada la solución para poderse disolver, si el solvente es agua o si es un solvente orgánico, entre otros. En los laboratorios de calidad, es un requisito indispensable que las soluciones que se utilizan en los análisis sean preparadas de acuerdo con los estándares establecidos en las normas internacionales, para poder comparar los resultados y estos puedan ser validados de acuerdo con la certificación por las instituciones. Existen soluciones comerciales ya preparadas las cuales son estándares ya calibrados y suelen ser concentrados, para ser aplicados en los laboratorios deben ser diluidas de acuerdo con los ensayos característicos de cada laboratorio. Una solución es una mezcla molecular homogénea compuesta por dos o más sustancias, las partes que la integran o sea sus componentes, son dos, y comúnmente se llaman: soluto (lo que se va a disolver) y solvente o disolvente lo que disuelve al soluto. (Castro, 2013).

- Solución molar (M).- las unidades más utilizadas en química es el mol, por lo tanto, una solución molar expresa el número de moléculas gramo de soluto que hay en un litro de solución. Una solución 1.5M indica que en un litro de solución existen 1,5 moléculas gramo. Estas soluciones tienen aplicaciones prácticas ya que se pueden efectuar reacciones químicas conociendo las proporciones de las concentraciones molares de las sustancias que van a reaccionar.

- Solución normal (N).- es la solución que tiene un equivalente gramo en un litro de solución. Los equivalentes gramo (E) se determinan dividiendo el peso molecular del soluto entre el número de enlaces de valencia que la forman.
- Cortes histológicos en el criostato.

El criostato se utiliza para obtener secciones por congelación de 8 a 40  $\mu\text{m}$ , aproximadamente. La congelación se suele hacer en una plataforma dentro de la propia cámara refrigerada y el corte de debe sellar con tissue tek para que el tejido quede bien fijo y obtener mejor los cortes. Una vez cortado, se pone en un portaobjetos para poder observar ese corte al microscopio. En este caso, serán cortes de cerebro para observar en que parte del cerebro se está haciendo la inyección.

- Manejo de Ratones transgénicos

El bioterio es la unidad en el que se alojan los animales que son utilizados con fines experimentales, de enseñanza o pruebas de control, constituyendo un área fundamental del Centro de Investigación, es por ello de gran importancia el manejo y cuidado óptimo de los animales, para la obtención de resultados confiables en los proyectos de investigación (Instituto Nacional de Pediatría, 2022). En el instituto se cuenta con ratones con genes específicos que se usan para diferentes experimentos cerebrales, renales, nutricionales, etc. Se les debe lavar una vez por semana y deben contar con agua y alimento suficiente a diario.

- Genotipado de ratones.

El DNA se extrae mediante una incubación de la muestra con buffer de lisis (NaOH) dentro del termoline durante 30 minutos. Tras la neutralización, se coloca TrisHCl y las secuencias de interés se amplifican por PCR utilizando diferentes reactivos. Los productos de PCR amplificados se analizan en geles de agarosa y los resultados obtenidos se envían por correo electrónico al usuario.

- Reacción en cadena la polimerasa (PCR'S).

Reacción en Cadena de la Polimerasa: La idea básica de la técnica es sintetizar muchas veces un pedazo o fragmento de ADN utilizando una polimerasa que puede trabajar a temperaturas muy elevadas. Cuando se hace una reacción de PCR simulamos lo que sucede en una célula cuando se sintetiza el ADN y en el tubo se mezclan todos los ingredientes necesarios para hacerlo: la polimerasa, el ADN del organismo que queremos estudiar, los oligonucleótidos (llamados también primers, iniciadores, cebadores, "oligos", etc.) necesarios para que se inicie la transcripción, dinucleótidos (dNTPs), y las condiciones para que la enzima trabaje adecuadamente (cierto pH, determinadas cantidades de magnesio en forma de  $MgCl_2$ , KCl, y pueden necesitarse otras sales o reactivos, dependiendo de cada polimerasa). Esta técnica tan ingeniosa tiene muchísimas aplicaciones distintas y se ha convertido en una herramienta muy importante en la biología molecular; sus aplicaciones van desde la genética de poblaciones, evolución molecular y genómica hasta la medicina forense (Espinosa, s.f). En el laboratorio se usa para saber que ratones están teniendo determinado gen, el primer paso para la PCR es el lisado de las colas para "sintetizar" el ADN, el segundo paso es la PCR (mezclar todo) y el tercer paso es la elaboración de genes de agarosa para correr la PCR por electroforesis.

- Perfusiones.

Proceso fisiológico continuo y regulado de distribución de volumen de sangre por unidad de tiempo y peso de tejido para garantizar requerimientos energéticos (Aporte de sustratos y oxígeno, eliminación de productos de desecho), realizar control (regulación endocrina) e integración funcional sistémica en organismos multicelulares. En el laboratorio de fisiología experimental se utilizan las perfusiones para extraer el cerebro de los ratones para posteriormente cortarlos en el criostato para utilizar estos cortes en las inmunofluorescencias para análisis de anticuerpos. Se utiliza una solución de PFA al 4% y solución salina al 0.9%.

- Cirugía Estereotáxica.

La cirugía estereotáxica es una técnica que permite la localización de estructuras cerebrales para implantar electrodos o cánulas con la finalidad de explorar la función cerebral. Estos procedimientos han permitido identificar circuitos neuroanatómicos y neuroquímicos involucrados en el funcionamiento del cerebro, así como en alteraciones neurológicas. La cirugía estereotáxica se utilizará para inyectar azul de metileno para darle al núcleo arqueado del hipotálamo en el cerebro de los ratones, para posteriormente inyectar adenovirus en este lugar.

- Inmunofluorescencia.

La inmunofluorescencia actúa siguiendo 4 pasos claves:

1. Fijación: se preserva la localización, composición y estructura del material biológico.
2. Permeabilización: se produce poros en las membranas celulares permitiendo el ingreso de los anticuerpos a la célula.
3. Bloqueo: el objetivo es impedir interacciones inespecíficas de los anticuerpos con el material biológico a analizar. De esta manera se reduce la marcación inespecífica.
4. Inmunodetección: en este último paso se diferencian dos tipos de inmunofluorescencia: directa o indirecta.

Existen 2 tipos de inmunofluorescencia:

Principalmente, se recurre a la inmunofluorescencia para diagnosticar enfermedades de tipo autoinmunitario. Es decir, aquellas en las que las propias defensas del cuerpo atacan a algún órgano de nuestro organismo.

1. En el caso de la inmunofluorescencia directa, el fluorocromo se conjuga directamente con el anticuerpo primario.
2. Por otro lado, en la inmunofluorescencia indirecta los anticuerpos específicos no marcados se unen al antígeno y, en una segunda etapa, se agrega el anticuerpo marcado como fluorocromo. A diferencia de la

inmunofluorescencia directa, el fluorocromo se conjuga con un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario.

Además, la inmunofluorescencia sirve para que el especialista en Anatomía Patológica determine la presencia y distribución de proteínas, glúcidos o pequeñas moléculas y puede ser utilizada en cortes de tejidos, células individuales y secreciones con células en suspensión. La inmunofluorescencia se puede combinar con otras técnicas que no hagan uso de anticuerpos. Por último, conviene señalar que es una técnica que puede aplicarse tanto en muestras de origen biológico como en muestras no biológicas.

- Western blot.

Western blot es una técnica de laboratorio utilizado para detectar una proteína específica en una muestra de sangre o tejido. El método implica el uso de electroforesis en gel para separar las proteínas de la muestra. Las proteínas separadas se transfieren del gel a la superficie de una membrana. La membrana se expone a un anticuerpo específico contra la proteína en estudio. La unión del anticuerpo se detecta usando un marcador radiactivo o químico. Un Western Blot se utiliza a veces para diagnosticar enfermedades.

La técnica de Western Blot se compone de diferentes fases o pasos para conseguir unos resultados satisfactorios:

1. Preparación de la muestra
2. Electroforesis
3. Transferencia
4. Inmunotinción
5. Detección de las bandas

Una vez la muestra está preparada, es necesario separar las proteínas mediante una electroforesis en gel y atendiendo los criterios que se deseen. Después, deben ser transferidas a una membrana adsorbente para encontrar mejor la proteína de

interés mediante anticuerpos específicos. Finalmente, la unión antígeno-anticuerpo es descubierta mediante fluorescencia o actividad enzimática.

### F. Evidencias.



## G. Referencias.

- <https://www.google.com/maps/place/Instituto+Nacional+de+Cardiolog%C3%ADa+Ignacio+Ch%C3%A1vez/@19.2903161,99.1547926,450m/data=!3m1!1e3!4m1!1m13!4m12!1m4!2m2!1d99.1788194!2d19.2543709!4e1!1m6!1m2!1s0x85ce00562bc21ad7:0x3ab3f259738ef8c7!2sinstituto+nacional+de+cardiologia!2m2!1d-99.1538029!2d19.2907396!3m4!1s0x85ce00562bc21ad7:0x3ab3f259738ef8c7!8m2!3d19.2907396!4d-99.1538029!5m1!1e2>
- CROMTEK. (2023). La importancia del pipeteo correcto en el laboratorio. Chile. [en línea] [consultado el 26/01/2023] recuperado de: <https://www.cromtek.cl/2022/12/06/la-importancia-del-pipeteo-correcto-en-el-laboratorio/>
- Instituto Nacional de Pediatría. (2017). Bioterio. México. [en línea] [consultado el 26/01/2023] recuperado de: <https://www.pediatria.gob.mx/investigacion/organigrama/bioterio.html>
- Espinosa, Laura. (s.f). Guía práctica sobre la técnica de PCR. México. [en línea] [consultado el 26/01/2023] recuperado de: <https://hopelchen.tecnm.mx/principal/sylabus/fpdb/recursos/r119344.PDF>
- Castro, Juana. (2013). Manual de procedimiento para la preparación de soluciones en los laboratorios de caracterización y calidad del agua y operación de plantas de tratamiento de agua. México. [en línea] [consultado el 25/01/2023] recuperado de: <https://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/26030/1/PREPARACION%20DE%20SOLUCIONES%20%28bueno%29.pdf>