



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Departamento de Sistemas Biológicos

Licenciatura Química Farmacéutica Biológica

**Informe de conclusión del servicio social por actividades relacionadas a la
profesión**

**Técnicas de biología molecular aplicadas al estudio de la fisiología en ratones
transgénicos SPAK-KI, RIP-CRE y SR-CHR.**

Presenta: Maria de los Angeles Cortes Santos

Matrícula: 2163064642

M en C. Felipe Mendoza Pérez

Asesor interno

No. Eco. 7183

Dra. María de Jesús Chávez Canales

Asesora Externa

C.P. 69250778

Lugar de realización: Laboratorio de Fisiología Experimental.

Unidad Investigación del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" y del Instituto
Investigaciones Biomédicas de la UNAM.

Introducción

El conocimiento científico es esencial para comprender las patologías que afectan la salud en México y en todo el mundo. Por esta razón, la enseñanza y el desarrollo científico busca fenómenos biológicos y biomédicos en los niveles molecular, bioquímico, celular, organísmico y poblacional, con el objetivo de lograr un diagnóstico oportuno y un tratamiento eficaz que mejore la calidad de vida de las personas.

Por eso el Instituto de Investigaciones Biomédica “Busca 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. Fortalecer la planta académica de la entidad a través de la contratación de personas investigadoras y técnicas académicas de alto nivel, así como vincularse al sector salud” (UNAM, s/f).

Ante esta situación, es necesario asumir una responsabilidad social, por lo que realicé una estancia de seis meses en el Laboratorio de Fisiología Experimental de la Unidad de Investigación del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" y del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM, llevando a cabo el servicio social, en el marco de las actividades vinculadas a la profesión.

Las técnicas de biología molecular utilizadas para investigar ratones genéticamente modificados, proporcionan información valiosa para entender los mecanismos fisiopatológicos involucrados en enfermedades como la hipertensión y vías involucradas en la regulación de peso corporal, llevadas a cabo por investigadores y colaboradores; por lo tanto, mi contribución consistió en apoyar a los investigadores en diferentes fases del trabajo experimental, así como asistencia técnica, operativo y en experimentos de menor escala.

Las actividades que se aprendieron desarrollaron y adquirieron, así como la prevención de errores, incluyeron la realización de PCR de punto final, que es fundamental en la biotecnología para la amplificación de ADN, la electroforesis en gel, la preparación de soluciones y el cuidado de los ratones para asegurar su bienestar. Por lo tanto, recibí capacitación práctica para aprender a operar equipos, dispositivos y otros materiales de laboratorio, con el objetivo de ser precisa, exacta y minimizar errores, con el fin de obtener resultados reproducibles y reforzar la parte teórica que aprendí en la licenciatura.

Objetivo General:

Aplicar las técnicas de biología molecular aprendidas en el laboratorio de Fisiología Experimental para la realización de experimentos más pequeños solicitadas durante la estancia, asegurando el cumplimiento de las normas de buenas prácticas de laboratorio y de seguridad.

Objetivos específicos:

- Cuidar (alimentación y limpieza) a los animales de bioterio conforme a la NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- Manejar reactivos y preparación de soluciones.
- Aprender el uso adecuado, seguro y el mantenimiento de los instrumentos y equipos de laboratorio.
- Aprender y realizar lisis para la extracción de DNA, PCR, Electroforesis en una serie de actividades pequeñas y procedimientos ordenados.
- Comprender, analizar e interpretar los resultados de las técnicas de biología molecular.
- Apoyar en la asistencia a investigadores en los experimentos realizados.

Metodología

Este servicio social fue diseñado para una duración de 6 meses en el laboratorio con presencia de 5 días por semana durante 5 horas.

Investigación y recopilación de información: Se realizó una búsqueda en bases de datos científicas como PubMed, para el refuerzo de los conceptos de DNA, proteína, PCR, pH, preparación de soluciones, con el fin de tener una mejor comunicación con los investigadores y una mejor comprensión para las actividades a realizar.

Planificación de la capacitación: Las actividades realizadas, fueron supervisadas por el responsable a cargo; una vez dominadas las tareas, debían ser realizadas de forma individual, pero siempre habiendo un responsable para aclarar dudas.

Se describió el desarrollo de recursos para la enseñanza práctica de biología molecular, con un laboratorio que incluía todos los reactivos y materiales necesarios

para la capacitación de estas técnicas. Todos los protocolos y archivos de diseño están disponibles bajo licencias, que autorizan explícitamente su estudio y replicación. Las secciones fueron impartidas por varios instructores con diseños y estilos de enseñanza individuales.

Se planteo una red de conocimientos altamente integrada con relación a la productividad, en la resolución de problemas y la construcción de explicaciones, a partir de las piezas de conocimiento, manipulación de conexiones entre ideas y construir una visión cohesiva de las relaciones entre los fenómenos para construir verdaderamente la comprensión de los mecanismos en biología molecular.

Actividades realizadas y su descripción

Cuidado de los ratones en el bioterio

Todos los procedimientos con los animales se realizaron de acuerdo con la norma NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio y de acuerdo con las Directrices de los Institutos Nacionales de Salud (INH) para el cuidado y uso de animales.

Se debía asegurar constantemente la provisión de alimento (dieta normal o alta en grasa) y agua potable *ad libitum*. Las jaulas se limpiaron dos veces por semana y los cuartos de alojamiento se mantuvieron con un ciclo inverso de luz y oscuridad de 12/12 horas.

La higiene de su hábitat (Figura 1) consistió en el lavado de cajas, botellas de agua, cambio de aserrín, poner enriquecimiento (periódico, cartón, objetos de plástico). Con el fin de mantener su bienestar, seguridad, evitar enfermedades y contaminantes. También se llevaba un registro de animales en estado de gestación, numero de ratones nacidos y bajas (muertes). Conforme a su asignación (colonia, cepa) e ID.



8-Agosto-25

Animal	Estado
SPAK	siguen 4 crías
UR 56	
CS7	
UR1	sigue 1 cría
UR2	sin noticias
SR-CHR	
UR 5	sin noticias
" 7	sin noticias
" 8	sin noticias
" 9	siguen 7 crías + 1 G ♀
" 10	siguen 2 crías
" 11	siguen 4 crías
" 12	siguen 5 crías + 7 crías nuevas
" 13	sin noticias + 1 G ♀
" 14	siguen 3 + 1 G ♀
" 15	5 crías nuevas

Figura 1. A) Ejemplo de la higiene del habitat de los ratones que se tenía que mantener y B) El registro en la bitácora de crías nacidas, en estado de gestación y bajas.

Fundamentos de trabajo dentro del laboratorio.

El laboratorio es esencial en la ciencia, por lo que fue importante aprender el uso y manejos de diferentes equipos, antes de realizar los experimentos para el éxito de las prácticas de laboratorio.

Herramientas de preparación

El lavado y esterilización de material del laboratorio e insumos, fue fundamental para prevenir la contaminación, degradación de proteínas y/o ácidos nucleicos, así como el desperdicio de reactivos.

El proceso de limpieza consistió en lavar con Extran al 10%, el fregado manual con esponja y/o cepillos, seguido con un enjuague con agua corriente, luego con agua destilada y finalmente su secado en bastidor. En el caso del material a esterilizar, este debía ser sometido a una temperatura de 121° C a 15 psi durante 20 minutos. Al final el material de laboratorio debía estar libre de suciedad, grasa u otras impurezas residuales o microbiológicas que pudieran contaminar los procesos activos o las muestras, lo que podría resultar en resultados erróneos. (tiselab, 2021).

Preparación de soluciones

Se dedicaron dos semanas a desarrollar habilidades para la preparación de soluciones. Para comenzar, se revisaron los cálculos necesarios para la elaboración de las soluciones, que en su mayoría eran de concentraciones molares (M) o porcentaje peso-volumen (% p/v) Figura 2.

A

$$0.1 \text{ M NaOH} = \frac{Xg \text{ NaOH}}{40 \frac{g}{mol} \times 0.05L} \rightarrow Xg \text{ NaOH} = 0.1 \frac{mol}{L} \times 40 \frac{g}{mol} \times 0.05L = 0.2 \text{ g NaOH}$$

B

$$30\% \frac{p}{v} = \frac{Xg \text{ sacarosa}}{1000 \text{ mL}} \times 100\% \rightarrow Xg = \frac{30\% \times 1000mL}{100\%} = 300g \text{ sacarosa}$$

Figura 2. Formulas y ecuaciones para calcular y pesar la masa total del polvo a utilizar. Ejemplo de A) NaOH 0.1 M y B) Solución de sacarosa al 30% con Azida sódica.

La balanza es un equipo fundamental para la medición de masas de diferentes consistencias, permitiendo pesar reactivos y muestras con precisión. Antes de realizar la pesada, era necesario verificar que la burbuja niveladora estuviera centrada.

Los componentes de la solución se seleccionaron en función de lo que se iba a preparar, determinando el volumen y la concentración molar o porcentual de la solución final.

Se procedió a pesar y cerrar los protectores contra corriente de aire, para tener una mejor precisión (Figura 3). Finalmente se registraba la medición. La mezcla de la masa sólida pesada con una cantidad determinada de solvente se mantuvo en agitación hasta que se disolvió por completo. Si era necesario, se ajustaba el pH utilizando un potenciómetro, dependiendo de si se deseaba una solución ácida, neutra o alcalina.



Figura 3. Se debía pesar una masa de polvo calculada, a partir del porcentaje y el volumen requerido. Ejemplo peso 1.4088 g de agarosa. Tras disolver el reactivo sólido en una alícuota, la solución se llevó al volumen final en una probeta graduada.

El potenciómetro debía ser calibrado previamente, utilizando una solución buffer, ácida a pH 4.01, así como buffer a pH 7 y buffer a pH 10. Una vez que se obtenía un

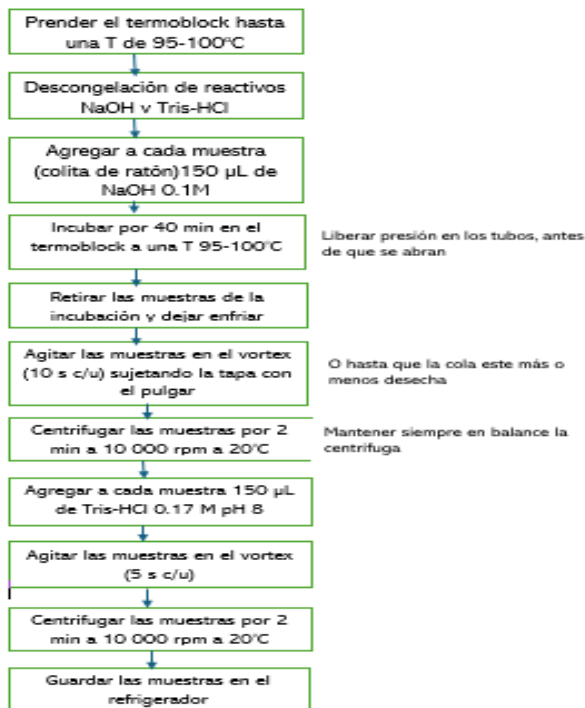
A**Lisis de colitas (extracción de ADN)****B**

Figura 6. A) Protocolo para la extracción de DNA mediante lisis alcalina (elaboración propia). B) Thermoblock usado para el control térmico de la lisis alcalina de las biopsias.

Ejecución de la PCR

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica altamente utilizada para la amplificación de fragmentos específicos de DNA, para detectar la expresión de interés, con el fin de saber si esos ratones serían utilizados en la planificación de los experimentos.

Para la realización de la PCR se necesita de una mezcla maestra o Master Mix (por sus siglas en inglés) que contiene una DNA polimerasa, un primer (cebador u oligonucleótido) previamente diseñado para unirse por complementariedad a los extremos 3' del fragmento que se quiere amplificar., buffer de reacción, cloruro de magnesio utilizado como cofactor de la DNA polimerasa, un control de muestra de cDNA del gen, agua libre de nucleasas (Figura 7). Una vez montada la PCR se lleva al termociclador, un dispositivo que facilita las reacciones de PCR a través de ciclos de temperatura precisos y fácilmente ajustables.



Figura 7. Representación esquemática de la realización de la PCR, para la amplificación del DNA de interés de biopsias de cola de ratón SPAK, KI y wild type

Electroforesis en gel

Es un método de separación para analizar fragmentos de DNA, conveniente para determinar su tamaño en un rango de 500-30.000 pares de bases. Una vez finalizada la PCR, se procede a preparar un gel con cierta concentración de agarosa, mezclado con TAE 1X, para definir el tamaño del poro y se realice el tamizado dependiendo el tamaño del DNA, además al gel se le agrega un colorante fluorescente, para detectar el DNA amplificado. Posteriormente, se coloca el gel en una cámara de electroforesis llena de tampón TAE 1X, y se cargan las muestras de PCR en los pocillos. Se conectan los electrodos a una fuente de alimentación y se aplica una corriente de 70 Volts, hasta que el frente del colorante migre lo suficiente a través del gel (Figura 8). Una vez finalizada la corrida, el gel se visualizaba en un equipo de imágenes ChemiDoc™ de Bio-Rad.

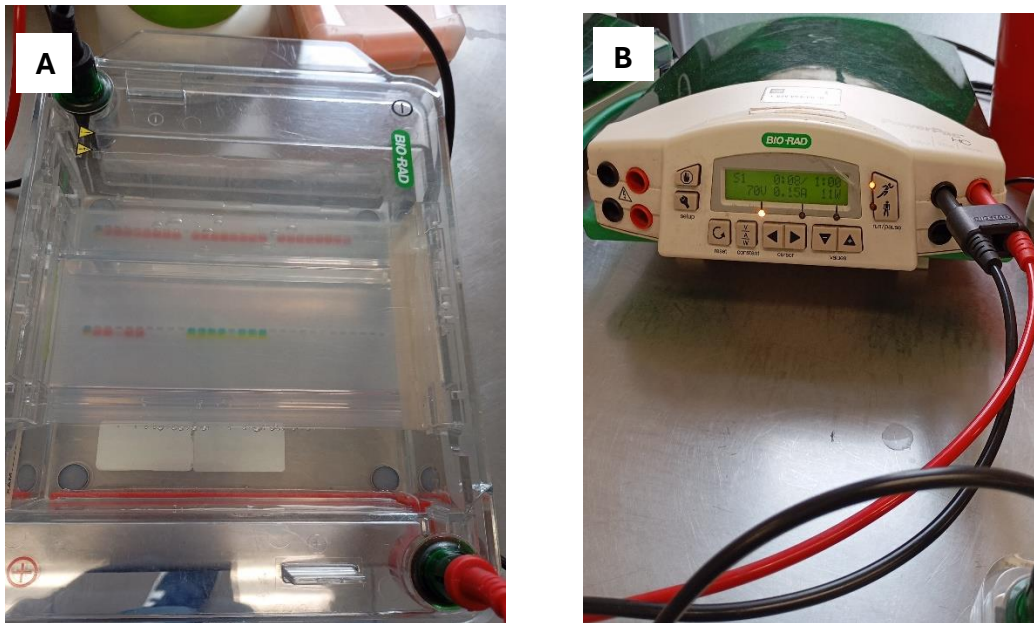


Figura 8. A) Imagen de la Cámara de electroforesis, para la separación de DNA por tamaño y su posterior detección. B) Fuente de poder utilizada para la migración del DNA a 70 voltios. El procesamiento y análisis del gel se realizó utilizando el equipo ChemiDoc™ de Bio-Rad.

Al finalizar se obtuvo un resultado cualitativo (Figura 9) cuyo único objetivo era detectar la presencia, integridad o ausencia de DNA, lo que permite determinar si los ratones son homocigotos o heterocigotos, verificado mediante la presencia de una banda de amplificación en el gel de agarosa.

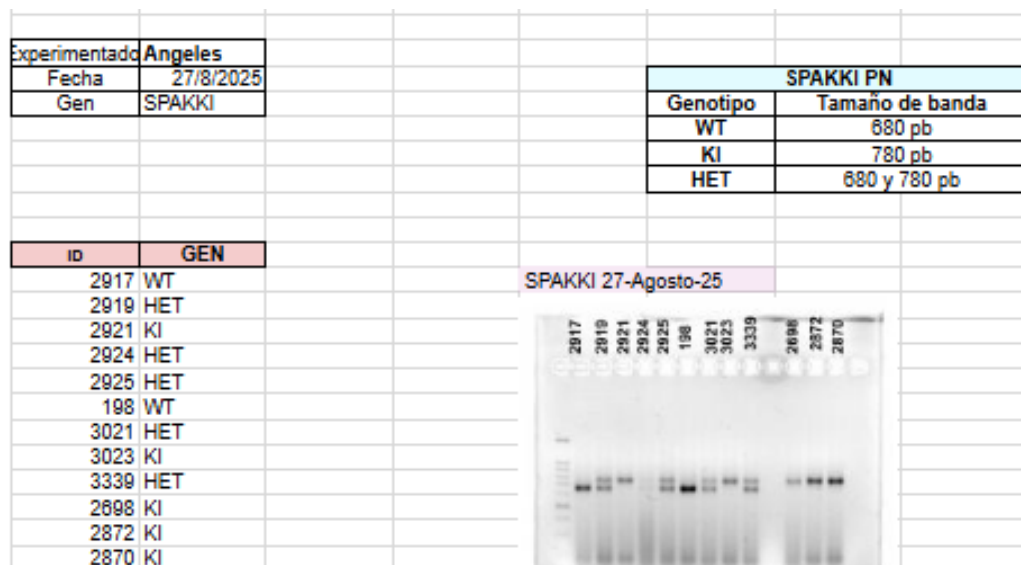


Figura 9. Resultado final de la lisis alcalina, PCR y la electroforesis en gel, para determinar si los ratones son homocigotos o heterocigotos. Las bandas corresponden a productos amplificados por PCR del gen que codifica para la proteína SPAKKI. Cada carril representa un ratón en la genotipificación.

Objetivos y metas alcanzadas

El servicio social representó una aplicación práctica de los conceptos aprendidos durante la formación profesional, así como la adquisición de habilidades prácticas mediante la experiencia, lo que permitió una comprensión más profunda del aprendizaje en el ámbito científico.

Logré llevar a cabo la PCR de punto final, entendiendo tanto los principios teóricos como prácticos, para el manejo y la amplificación del DNA, así como su detección e interpretación de los resultados obtenidos de la electroforesis en gel de agarosa, identificando muestras positivas con alelos homocigotos o heterocigotos.

Los desafíos más significativos que se encontraron incluyeron la evaporación parcial de los reactivos, la falta de experiencia en la carga de los geles, la posible degradación del DNA, la inadecuada preparación del Master Mix y la contaminación de las muestras. La mayoría de estos inconvenientes se solucionaron mediante la repetición y la reproducibilidad.

En lo que respecta a la extracción de DNA, se logró alcanzar el 100% del objetivo, sin ningún inconveniente, al igual que la electroforesis en gel de agarosa.

Todas las soluciones elaboradas cumplieron con su función, fortaleciendo la confianza en mis habilidades básicas para manipular reactivos y en la aplicación de los procedimientos adecuados. No obstante, se identificaron algunos errores al preparar las soluciones, tales como: pesar una cantidad incorrecta de sólido, medir un volumen erróneo, calcular incorrectamente una masa y/o volumen necesario y generar un volumen final inexacto; además, se consolidaron los conceptos de molaridad (M), milimoles (mM) y porcentaje masa/volumen.

Cada estudio que involucro ratones era muy importante vigilar su entorno, una manipulación cuidadosa y ser alojados en las mismas condiciones, dado que son organismos altamente sensibles. De este modo, se busca reducir la variación dentro de un estudio y, en consecuencia, aumentar la capacidad de identificar los posibles resultados, evitando así discrepancias en los resultados y diferencias en estudios replicados.

Resultados y conclusión

Durante el servicio social, se llevó a cabo la extracción de ADN de ratones, se realizó la PCR de punto final y se analizó el patrón de bandas mediante electroforesis en gel de agarosa, con el fin de determinar el genotipo de los ratones que se utilizaron en diversos experimentos.

Durante casi seis meses, se logró extraer ADN en todas las secciones. Aproximadamente el 95% de las PCR de punto final realizadas fueron exitosas. La electroforesis en gel de estas ampliaciones de PCR incluyó una escalera de marcadores moleculares. Los geles fueron elaborados y procesados en su totalidad. Una vez que los geles estuvieron completos, se evaluaron e indicaron los tamaños probables de las bandas, así como la naturaleza homocigótica versus heterocigótica de las muestras y las diferencias alélicas que existían entre ellas.

Se pudo completar la preparación de soluciones, a través del correcto manejo y uso de los equipos básicos de laboratorio.

Los farmacéuticos deben contar con las competencias necesarias para cumplir con sus responsabilidades profesionales hacia la sociedad, que requieren no solo competencia técnica, sino también un compromiso personal con su trabajo, centrado en la atención al paciente.

Referencias

1. Unam.mx. (S/f). Recuperado el 27 de octubre de 2025, de <https://www.biomedicas.unam.mx/acerca-del-instituto/quienes-somos/>
2. *Técnicas de lavado de instrumentos de laboratorio y el Círculo de Sinner*. (2021). Tiselab. <https://www.tiselab.com/homepage/lavado-instrumentos-laboratorio/>
3. Cerda, A., Aravena, A., Zapata, V., Arce, A., Araya, W., Gallardo, D., Aviles, J., Quero, F., Nuñez, I., Matute, T., Navarro, F., Ferrando, V., Blanco, M., Velozo, S., Rodriguez, S., Aguilera, S., Chateau, F., Olivares-Donoso, R., Molloy, J. C., Aidelberg, G., ... Federici, F. (2025). Open educational resources for distributed hands-on teaching in molecular biology. *PloS one*, 20(8), e0327975. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0327975>
4. Southard, K., Wince, T., Meddleton, S., & Bolger, M. S. (2016). Features of Knowledge Building in Biology: Understanding Undergraduate Students' Ideas about Molecular Mechanisms. *CBE life sciences education*, 15(1), ar7. <https://doi.org/10.1187/cbe.15-05-0114>
5. Russell, A., & Cruz, L. (2025). Reading science: A mixed-methods study of alternative grading with a molecular biology journal club. *Biochemistry and molecular biology education : a bimonthly publication of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, 53(3), 297–304. <https://doi.org/10.1002/bmb.21890>
6. Siritunga, D., Montero-Rojas, M., Carrero, K., Toro, G., Vélez, A., & Carrero-Martínez, F. A. (2011). Culturally relevant inquiry-based laboratory module implementations in upper-division genetics and cell biology teaching laboratories. *CBE life sciences education*, 10(3), 287–297. <https://doi.org/10.1187/cbe.11-04-0035>
7. Makransky, G., Thisgaard, M. W., & Gadegaard, H. (2016). Virtual Simulations as Preparation for Lab Exercises: Assessing Learning of Key Laboratory Skills in Microbiology and Improvement of Essential Non-Cognitive Skills. *PloS one*, 11(6), e0155895. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155895>
8. Kolling, W. M., & McPherson, T. B. (2013). Assessment of the accuracy of pharmacy students' compounded solutions using vapor pressure osmometry. *American journal of pharmaceutical education*, 77(3), 58. <https://doi.org/10.5688/ajpe77358>