

| | | | |
|--|--|--------|-------------|
| | GESTIÓN DE RECURSOS Y SERVICIOS BIBLIOTECARIOS | Código | FO-SB-12/v0 |
| | ESQUEMA HOJA DE RESUMEN | Página | 1/62 |

RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR(ES):

NOMBRE(S): JANETH CRISTINA APELLIDOS: ARIAS UMBARILA

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR:

NOMBRE(S): HUMBERTO APELLIDOS: OSSA REYES

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA genTaq POLIMERASA

RESUMEN

Actualmente se ha elevado el alto uso de técnicas moleculares para diagnóstico e investigación, principalmente la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), incrementándose a su vez la demanda de la enzima ADN polimerasa termoestable fundamental para llevar a cabo la replicación del ADN pero su adquisición puede llegar a ser costosa por ser producida y comercializada principalmente por países desarrollados. El objetivo de este proyecto fue evaluar la actividad enzimática de la genTaq polimerasa (enzima ADN polimerasa termoestable nacional) en especies de diferentes reinos con fragmentos de distinto peso molecular. La evaluación se realizó de dos maneras: primero comprobando las concentraciones de los Buffer acompañantes de la enzima y segundo por medio de la amplificación de ADN de las siguientes especies: humano, *Vibrio cholerae*, *Candida auris*, *Cryptococcus neoformans*, *Giardia sp* y *Chikunguña*. Se logró apreciar un rango de peso molecular de ADN entre 80 y >1600pb en la cual la enzima actúa sin alterar su actividad de amplificación.

PALABRAS CLAVE: genTaq polimerasa, amplificación, replicación, actividad enzimática

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 62 PLANOS: 0 ILUSTRACIONES: 0 CD ROOM: 1

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA genTaq POLIMERASA

JANETH CRISTINA ARIAS UMBARILA

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
SAN JOSÉ DE CÚCUTA

2019

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA genTaq POLIMERASA

JANETH CRISTINA ARIAS UMBARILA

TRABAJO DIRIGIDO

Trabajo de grado para optar el título de ingeniero biotecnológico

DIRECTOR:

HUMBERTO OSSA BSs. MSc. cPHD

GENETISTA UNIVERSIDAD NACIONAL

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
SAN JOSÉ DE CÚCUTA

2019

ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 14 DE FEBRERO DE 2019

HORA: 9:00 a.m.

LUGAR: CREAD SALA 4

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TITULO: "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA genTaq
POLIMERASA"

MODALIDAD: TRABAJO DIRIGIDO

JURADO: NELSON ALFONSO VEGA CONTRERAS
GERMAN LUCIANO LÓPEZ BARRERA
JUAN CARLOS RAMÍREZ BERMÚDEZ

ENTIDAD: UFPS

DIRECTOR: HUMBERTO OSSA REYES

| NOMBRE DE LOS ESTUDIANTE | CODIGO | CALIFICACION |
|--------------------------------|---------|--------------|
| JANETH CRISTINA ARIAS UMBARILA | 1610859 | 4.3 |

OBSERVACIONES: APROBADO.

FIRMA DE LOS JURADOS



Nelson Alfonso Vega Contreras



German Luciano López Barrera



Juan Carlos Ramírez Bermúdez

Vo.Bo Coordinador Comité Curricular



Yaneth Amparo Muñoz Pitaloza

DEDICATORIA

*El presente trabajo está dedicado a quienes confiaron
en mí aun cuando yo dejé de hacerlo:*

Mis padres

AGRADECIMIENTOS

La autora expresa su más sincero agradecimiento a:

A Dios, por concederme la bendición de culminar una meta más.

A mis padres, por su apoyo incondicional, amor, comprensión, dedicación, brindándome todas las herramientas necesarias para cumplir mis metas.

A mi hermana por ser mi ejemplo a seguir y acompañarme incondicionalmente a lo largo del camino.

A mis familiares, amigos y compañeros, por brindarme su amistad, confianza y apoyo.

A mi alma mater la universidad Francisco de Paula Santander, La Facultad de ciencias agrarias y del medio ambiente y la carrera de ingeniera biotecnológica, por brindarme una formación integral tanto a nivel personal como a nivel profesional.

Docentes del programa de Ingeniería Biotecnológica, cuyos aportes fueron fundamentales para mi formación profesional.

Dr. Humberto Ossa, como Director del presente trabajo de grado, por sus enseñanzas durante todo el desarrollo del mismo, siendo su acompañamiento fundamental para la construcción del proyecto.

Dra. Eliana Calvo, investigadora del Laboratorio de virología de la Universidad del Bosque por su colaboración, orientación y acompañamiento en el presente trabajo.

Dra. Patricia Escandón, Profesional especializado del Laboratorio de microbiología del Instituto Nacional de Salud por su colaboración, orientación en el presente trabajo.

Personal del laboratorio de Genética y Biología Molecular por su gran colaboración y afecto.

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|--------------------------------|----|
| INTRODUCCIÓN | 13 |
| 1. PROBLEMA | 14 |
| 1.1 Titulo | 14 |
| 1.2 Planteamiento del problema | 14 |
| 1.3 Formulación del problema | 15 |
| 1.4 Justificación | 15 |
| 1.5 Objetivos | 17 |
| 1.5.1 Objetivo general | 17 |
| 1.5.2 Objetivos específicos | 17 |
| 1.6 Alcances y limitaciones | 17 |
| 1.6.1 Alcances | 17 |
| 1.6.2 Limitaciones | 17 |
| 1.7 Delimitaciones | 18 |
| 1.7.1 Espacial | 18 |
| 1.7.2 Temporal | 18 |
| 1.7.3 Conceptual | 18 |
| 2. MARCO REFERENCIAL | 19 |
| 2.1 Antecedentes | 19 |

| | |
|--|----|
| 2.1.1 Antecedentes bibliográficos | 19 |
| 2.2 Marco teórico | 23 |
| 2.3 Marco conceptual | 25 |
| 2.4 Marco contextual | 27 |
| 2.5 Marco legal | 28 |
| 3. METODOLOGÍA | 29 |
| 3.1 Tipo de investigación | 29 |
| 3.2 Población y muestra | 30 |
| 3.1.1 Población | 30 |
| 3.1.2 Muestra | 30 |
| 3.3 HIPÓTESIS | 31 |
| 3.4 Etapas cumplidas en el desarrollo del proyecto | 32 |
| 3.4.1 Producción de la enzima Taq polimerasa. | 32 |
| 3.4.2 Producción de la enzima | 33 |
| 3.4.3 Obtención del extracto enzimático. | 35 |
| 3.4.4 Purificación de la enzima | 35 |
| 3.5 Prueba de amplificación | 36 |
| 3.5.1 Montaje de PCR (diluciones) | 36 |
| 3.6 Almacenamiento | 37 |
| 3.7 Concentración de los buffer acompañantes de la genTaq polimerasa | 38 |

| | |
|---|----|
| 3.8 Pruebas de amplificación es diferentes especies | 38 |
| 3.8.1 Humano | 38 |
| 3.8.2 Bacteria | 39 |
| 3.8.3 Levadura | 40 |
| 3.8.4 Parásito y virus | 40 |
| 4. RESULTADOS Y ANÁLISIS | 41 |
| 4.1 Reactivación de la cepa | 41 |
| 4.2 Caracterización | 42 |
| 4.3 Prueba de amplificación | 43 |
| 4.4 Concentración de Buffer acompañantes | 45 |
| 4.5 Pruebas de amplificación en diferentes especies | 47 |
| 4.5.1 Humano | 47 |
| 4.5.2 Bacteria | 49 |
| 4.5.3 Levaduras | 50 |
| 4.5.4 Parásito y virus | 51 |
| 5. CONCLUSIONES | 53 |
| RECOMENDACIONES | 54 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 55 |
| ANEXOS | 60 |