

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

RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR(ES): NOMBRES Y APELLIDOS COMPLETOS

NOMBRE(S): NAYELI ALEJANDRA APELLIDOS: JAIMES JAIMES

NOMBRE(S): _____ APELLIDOS: _____

FACULTAD: _____ CIENCIAS AGRARIAS Y MEDIO AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: _____ INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR:

NOMBRE(S): JOSMAN ANDREY APELLIDOS: VELASCO MENDOZA

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): ESTANDARIZACIÓN DE TÉCNICAS DE TINCION APLICADAS A CROMOSOMAS OBTENIDOS DE LINFOCITOS HUMANOS CULTIVADOS "IN VITRO" EN MEDIO RPMI -1640

RESUMEN

La variación de las técnicas de cultivo de linfocitos y de bandeo cromosómico, según las especies y condiciones de laboratorio, hace que sea indispensable estandarizarlas para la especie objeto de estudio, con el fin de obtener mejores resultado. Se realizaron una serie de diseños experimentales en donde se evaluaron diferentes variables, para el estudio de estabilidad del medio de cultivo tales como: temperatura, tiempo de almacenamiento e índice mitótico; para la técnica de ICH concentración de BrdU y tiempos de aplicación, concentración de Hoechst y tiempos de acción y para banda R tiempos de exposición a luz blanca, tiempos de acción de la SSC 2X y tiempos para tinción. La valoración de cada tratamiento se realizó mediante la evaluación de la morfología de las metafases y presencia de patrón de bandeo. Se estableció que los mejores resultados para la estabilidad del medio de cultivo se obtuvieron para un periodo de tres meses independientemente de la temperatura de almacenamiento; para intercambio de cromátides hermanas (ICH) una concentración de BrdU de 4µg/por ml de cultivo aplicada a las 46 horas de incubación y una exposición a Hoechst de 30 minutos por lamina a una concentración de 2µg/por ml de cultivo para la tinción, para banda R una concentración de BrdU de 1mg/ml aplicada 7 horas antes de empezar el proceso de cosecha y para la tinción un tiempo de exposición a luz blanca de 30 minutos cubriendo cada lamina con 2X SSC, posteriormente se colorea con Giemsa durante dos minutos. Obteniéndose estos buenos resultados con base a una revisión bibliográfica, haciendo pequeñas modificaciones en los protocolos encontrados.

PALABRAS CLAVE: Cultivo de linfocitos, Metafase, Cromosomas, intercambio de cromátides hermanas, bandeo R, Bromodeoxiuridina, Colorante Hoechst.

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 87 PLANOS: _____ ILUSTRACIONES: _____ CD ROOM: 1

Elaboró		Revisó		Aprobó	
Equipo Operativo del Proceso		Comité de Calidad		Comité de Calidad	
Fecha	24/10/2014	Fecha	05/12/2014	Fecha	05/12/2014

COPIA NO CONTROLADA

ESTANDARIZACIÓN DE TÉCNICAS DE TINCION APLICADAS A CROMOSOMAS
OBTENIDOS DE LINFOCITOS HUMANOS CULTIVADOS “IN VITRO” EN MEDIO RPMI -

1640

NAYELI ALEJANDRA JAIMES JAIMES

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

2016

ESTANDARIZACIÓN DE TÉCNICAS DE TINCION APLICADAS A CROMOSOMAS
OBTENIDOS DE LINFOCITOS HUMANOS CULTIVADOS “IN VITRO” EN MEDIO RPMI -

1640

NAYELI ALEJANDRA JAIMES JAIMES

Trabajo de grado presentado como requisito para la obtención del título

Ingeniero Biotecnológico

Director

JOSMAN ANDREY VELASCO MENDOZA

Ingeniero Biotecnológico

Esp. Gestión Ambiental

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

2016



UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 22 DE DICIEMBRE DE 2015

HORA: 2:00 P.M.

LUGAR: EDIFICIO CREAD SALA N°03

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERIA BIOTECNOLÓGICA

TÍTULO: "ESTANDARIZACION DE TECNICAS DE TINCIÓN APLICADAS A CROMOSOMAS OBTENIDOS A PARTIR DE LINFOCITOS HUMANOS CULTIVADOS "IN VITRO" EN MEDIO RPMI -1640".

MODALIDAD: TRABAJO DIRIGIDO

JURADO: LILIANA YANET SUAREZ CONTRERAS
LEIDY DIANA ARDILA LEAL
JAVIER EDUARDO AREVALO GONZALEZ

DIRECTOR: JOSMAN ANDREY VELASCO MENDOZA-COORDINADOR DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO - LABORATORIO DE GENETICA Y BIOLOGIA MOLECULAR LTDA.

NOMBRE DEL ESTUDIANTE	CÓDIGO	CALIFICACIÓN
NAYELI ALEJANDRA JAIMES JAIMES	1610629	4,5

OBSERVACIONES:
MERITORIA

FIRMA DE LOS JURADOS:

Liliana Y Suarez Leidy Diana Ardila Leal Javier Eduardo Arevalo Gonzalez

Vo.Bo. Coordinador Comité Curricular

Josman Andrey Velasco Mendoza

Dedicatoria

A Dios, a mis padres que me han dado la existencia y en ella la capacidad de superarme dando siempre lo mejor de mí en cada paso que doy, enseñándome a valorar cada cosa que tengo y a mi hermano por ser tan persistente en la vida, por su aliento continuo y su apoyo absoluto. A ellos porque aunque no ha sido sencillo el camino hasta ahora son mi motivación diaria para nunca rendirme.

Agradecimientos

Agradezco primeramente a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en mis momentos de debilidad, por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hizo realidad este sueño anhelado.

Le doy infinitas gracias a mis papitos, Nora Jaimes y Henry Jaimes por apoyarme en todo momento, por inculcarme tantos valores, por haberme dado una excelente educación a lo largo de mi vida y por todos esos sentimientos bonitos que transmitieron en mí, ya que todas estas cosas para mí son invaluable. A mi hermano Henry A. Jaimes que siempre ha estado ahí brindándome su apoyo y aconsejándome cuando lo he necesitado.

A mi familia en general, porque han estado incondicionalmente conmigo, en las buenas y en las malas, pero especialmente a ti, Richard Jaimes, porque me hiciste crecer en varios aspectos, me demostraste el gran cariño que sientes por mí, soy muy afortunada de tenerte en mi vida Tío hermoso, nunca tendré como pagarte todo lo que haces.

Al laboratorio de genética y biología molecular Ltda. por haberme aceptado ser parte de él y abierto las puertas de su seno científico para poder culminar mi carrera, al Dr. Humberto Ossa por todas sus enseñanzas y la familia Ossa por acogerme de tan buena manera.

A mi director de tesis, el Ingeniero Josman Andrey Velasco Mendoza por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha ayudado en mi educación. Por su visión crítica de muchos aspectos cotidianos de la vida, por su

rectitud en su profesión como docente y por sus consejos que ayudan a formarme como persona e investigador.

A mis asesoras de tesis, la Ingeniera Patricia Quintero, por su colaboración durante todos los diseños experimentales llevados a cabo y por su apoyo constante. A la Ingeniera Mayra Contreras por corregirme cuando lo consideraba, por darme opiniones, consejos y por estar siempre al pendiente.

A las personas que estuvieron conmigo durante todo este proceso, a las que pusieron un granito de arena dándome apoyo, animándome y recordándome cual era mi propósito.

A la universidad por permitirme convertirme en ser un profesional en aquello que me apasiona, a cada maestro que hizo parte de este proceso integral de formación, a mi jurado calificador, Liliana Yaneth Suarez Contreras, Leidy Diana Ardila Leal y Javier Eduardo Arévalo Gonzales, por sus aportes tan importantes. A la Ingeniera Yaneth Muñoz, por apoyarme cuando lo necesite.

A todos mil gracias por la confianza, pero sobre todo por creer en mí!

Contenido

	pág.
Introducción	15
1. El Problema	18
1.1 Título	18
1.2 Planteamiento del Problema	18
1.3 Formulación del Problema	19
1.4 Justificación	19
1.5 Objetivos	20
1.5.1 General	20
1.5.2 Específicos	20
1.6 Delimitaciones	21
1.6.1 Delimitacion espacial	21
1.6.2 Delimitacion temporal	21
1.6.3 Delimitacion conceptual	21
2. Marco Referencial	22
2.1 Antecedentes	22
2.2 Marco Teórico	29
2.2.1 Fundamento básico del medio de cultivo linfocitario	29
2.2.1.1 Siembra	29
2.2.1.2 Cosecha	32
2.2.1.3 Tincion	33
2.2.2 Estabilidad del medio de cultivo	34
2.2.3 Índice mitotico	34

2.2.4 Intercambio de cromatides hermanas	35
2.2.5 Técnica de Banda R	37
2.3 Marco Legal	39
3. Metodología	42
3.1 Tipo de Investigación	42
3.2 Población y Muestra	42
3.2.1 Población.	42
3.2.2 Muestra.	42
3.3 Etapas Desarrolladas	42
3.3.1 Estudio de estabilidad del medio de cultivo	43
3.3.2 Técnica intercambio de cromatides hermanas	44
3.3.3 Técnica de banda R	48
4. Resultados y Análisis	52
4.1 Estabilidad del medio de cultivo	52
4.2 Técnica de Intercambio de Cromatides Hermanas	55
4.2.1 Protocolo establecido para intercambio de cromatides hermanas	64
4.3 Técnica de Banda R	66
4.3.1 Protocolo establecido para Banda R	73
Conclusiones	76
Referencias Bibliográficas	77
Anexos	81