

PRACTICAS DE
BIOLOGÍA MOLECULAR

PRACTICAS DE
BIOLOGÍA MOLECULAR

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA-FÍSICA,
BIOQUÍMICA Y QUÍMICA INORGÁNICA

ÁREA DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA
MOLECULAR
UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

FELIPE RODRÍGUEZ VICO
FRANCISCO JAVIER LAS HERAS VÁZQUEZ
JOSEFA MARÍA CLEMENTE JIMÉNEZ

NOMBRE:

ALMERÍA, 1999

Practicas de la Asignatura de Biología Molecular

© del texto: Felipe Rodríguez Vico
Francisco Javier Las Heras Vázquez
Josefa María ClementeJiménez

© de la edición: Universidad de Almería, Servicio de Publicaciones
Almería 1999

Imprime: CENTRO DE GESTIÓN INFORMÁTICA S.A.
ISBN: 84-8240-220-6
Depósito Legal: Al-173-1999

PROLOGO

La Biología Molecular es una parcela de la ciencia que se encarga del manejo de las moléculas biológicas, como son los ácidos nucleicos y las proteínas. Los ácidos nucleicos son los portadores de la información genética en todas las formas de vida celular, así como virus. Existen dos clases de ácidos nucleicos, el ácido desoxirribonucleico (DNA) y el ácido ribonucleico (RNA). El DNA es la molécula de la herencia en todas las formas de vida celulares, así como muchos virus. Normalmente están constituidos por polímeros lineales de nucleótidos cuyos grupo fosfato unen las posiciones 3' y 5' de residuos de azúcar consecutivos. Está compuesto por combinaciones de los nucleótidos Citosina, Guanina, Timina y Adenina.

La manipulación del DNA conlleva una serie de técnicas que consisten en cortarlo, amplificarlo, secuenciarlo, expresarlo, sintetizarlo, mutarlo e incluso visualizarlo. Para todo ello debemos contar con una serie de compuestos como son los vectores de clonado, endonucleasas de restricción, microorganismos hospedadores, así como diferentes herramientas como la electroforesis. En un proceso normal de aislamiento de un fragmento de DNA para su estudio, se necesita en primer lugar introducirlo en un vector de clonado, para poder amplificar su número de copias y asegurarnos gran cantidad de material. Estas prácticas consistirán en comprobar la forma en que están unidas dos moléculas de DNA así como los métodos empleados para aislar y purificar ambos tipos de moléculas de DNA. Utilizaremos por tanto una serie de conceptos y herramientas.

ÍNDICE

	página
ÍNDICE	9
NORMAS GENERALES DEL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR	11
OBJETIVOS ESPECÍFICOS DE LAS PRÁCTICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	13
OBJETIVOS GENERALES DE LAS PRÁCTICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	13
PRÁCTICA 1. MINIPREPARACION DE DNA PLASMÍDICO	15
PRÁCTICA 2. TRANSFORMACIÓN DE CÉLULAS COMPETENTES	23
PRÁCTICA 3. CÁLCULO DEL RENDIMIENTO DE LA TRANSFORMACIÓN	31
PRÁCTICA 4. CORTE DE DNA CON ENDONUCLEASAS DE RESTRICCIÓN	35
PRÁCTICA 5. ELECTROFORESIS DE DNA EN GEL DE AGAROSA	43

ESQUEMA DE INTRODUCCIÓN DE UN FRAGMENTO DE DNA EN EL INTERIOR DE UN PLÁSMIDO	51
ESQUEMA DEL CLONADO DE UN PLÁSMIDO	53
LISTA DE REACTIVOS	55
BIBLIOGRAFÍA	61