

EXPERIMENTACIÓN EN BIOQUÍMICA

EXPERIMENTACIÓN EN BIOQUÍMICA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA-FÍSICA, BIOQUÍMICA Y QUÍMICA INORGÁNICA
ÁREA DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR
UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

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

NOMBRE:

ALMERÍA, 1998/99

Experimentación en Bioquímica

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

© de la edición: Universidad de Almería, Servicio de Publicaciones
Almería 1998

Imprime: CENTRO DE GESTIÓN INFORMÁTICA S.A.
ISBN: 84-8240-149-1
Depósito Legal: AI-340-1998

PROLOGO

Desde el principio de los 80, la Bioquímica y las áreas del conocimiento directamente relacionadas con ella están experimentando un extraordinario incremento en su aplicabilidad. Tradicionalmente la Bioquímica había venido encontrando su marco tecnológico en ciencias de la vida tales como Farmacia y Medicina. El desarrollo de técnicas Bioquímicas para el aislamiento y estudio de ácidos nucleicos amplió este panorama, llevando a la Bioquímica hasta el núcleo de las ciencias agrícolas, ganaderas y muy especialmente de la industria Química en todas sus facetas. En la actualidad la Bioquímica debe ser considerada como la aplicación más rentable y prometedora de la Química tradicional. Las modificaciones que la tecnología Bioquímica posibilita sobre la Información Biológica de los organismos, nos permiten obtener organismos que en un principio no disponen de la información necesaria.

La Industria Química moderna está respondiendo al reto que significa producir más y no afectar al medio natural. Además se produce cada día la aparición de nuevos productos químicos que deben ser fabricados con el menor impacto posible. El desarrollo de estas actividades biotecnológicas solo posible utilizando las tecnologías derivadas de la Bioquímica. Las limitaciones crecientes de la legislación europea en materia de contaminación y residuos están obligado a los profesionales de la Química a modificar su actividad hacia tecnologías limpias y por tanto basadas en el uso del funcionamiento de catalizadores biológicos. Es por ello que lo químicos con la formación adecuada para desempeñar su servicio social, deben conocer esta tecnología. Este libro está dirigido, precisamente en esta dirección, y pretende informar a los estudiantes de Ciencias Químicas de las técnicas Bioquímicas más utilizadas. Pero además pretende hacerlo de una forma lógica y con un objetivo específico. Así, las técnicas descritas aquí, lo están dentro de una estrategia experimental coherente, de forma que el estudiante no solo conozca la técnica sino también su utilidad y oportunidad. La finalidad última de esta obra es que los estudiantes puedan responder a problemas biotecnológicos concretos con herramientas bioquímicas y comprendan que el límite de esta tecnología está en su imaginación. Si conseguimos que los estudiantes recuperen parte de su creatividad nuestro trabajo habrá sido bueno.

INDICE

	página
ÍNDICE	
1	
OBJETIVOS ESPECÍFICOS DE LA ASIGNATURA DE EXPERIMENTACIÓN EN BIOQUÍMICA	3
OBJETIVOS GENERALES DE LA ASIGNATURA DE EXPERIMENTACIÓN EN BIOQUÍMICA	3
BLOQUE I.	
ESTUDIO DE LA REGULACIÓN DEL GEN DE LA ALCOHOL OXIDASA	5
1. CULTIVO DE LEVADURAS E INDUCCIÓN DEL GEN DE LA ENZIMA ALCOHOL OXIDASA	11
2. OBTENCIÓN DE ADN GENÓMICO DE LEVADURAS	15
3. ELECTROFORESIS DE ADN EN GEL DE AGAROSA	19
4. REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA DISEÑO DE OLIGONUCLEÓTIDOS CEBADORES ESPECÍFICOS PARA PCR	25 31
COMPOSICIÓN Y COMPORTAMIENTO TERMODINÁMICO DE LOS OLIGONUCLEÓTIDOS CEBADORES EN LA PCR SECUENCIA NUCLEOTÍDICA DE LA ENZIMA ALCOHOL OXIDASA DE <i>Pichia pastoris</i>	31 33
5. MEDIDA DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA ENZIMA ALCOHOL OXIDASA. PROCEDIMIENTO DE MEDIDA DE H ₂ O ₂ PRODUCIDO POR LA AOX.	41
6. DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE PROTEÍNAS	45
7. ELECTROFORESIS EN GELES DISCONTINUOS DE POLIACRILAMIDA EN PRESENCIA DE SDS.	53

BLOQUE II.	
CLASIFICACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS MEDIANTE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA	63
8. AMPLIFICACIÓN AL AZAR DE POLIMORFISMOS DE ADN	71
9. ANALISIS DE RESULTADOS	75
MEDIOS DE CULTIVO Y DE REACCION	77
BIBLIOGRAFÍA GENERAL	81
BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA	83
TEMPORIZACIÓN	85