

APÉNDICES

APÉNDICE A

Electroforesis en geles de Agarosa⁶¹

1. Pesar 2 gr de agarosa para preparar 100 ml de agarosa al 2%.
2. Colocarla en un matraz Erlenmeyer de 250 ml y agregar 100 ml de buffer TBE 1x (Anexo 3).
3. Calentar en un horno de microondas por 1 min y dejar enfriar hasta aproximadamente 50°C.
4. Preparar el molde y colocar el peine adecuado.
5. Vaciar la agarosa en el molde y dejar gelificar.
6. Retirar el peine y posteriormente separar el gel del molde y colocarlo en la cámara de electroforesis, que debe contener buffer TBE 1x. El buffer debe cubrir completamente al gel.
7. Colocar las muestras y el marcador de peso molecular adecuado en los pocillos, mezclados con jugo azul.
8. Conectar correctamente los cables de la cámara a la fuente de poder. El ánodo (polo -) debe estar orientado del lado donde están los pocillos y escoger el voltaje adecuado.
9. Dejar correr hasta el nivel deseado y teñir con bromuro de etidio.
10. Observar el gel mediante una lámpara de luz UV y documentarlo.

APÉNDICE B

Electroforesis en geles de Poliacrilamida⁶¹

1. Ensamblar el molde de vidrio de acuerdo a las instrucciones del fabricante.
2. En un vaso de precipitado de 50 ml preparar 30 ml de la solución, agregando los componentes en el orden indicado y la polimerización comenzará tan pronto sea agregado el TEMED (Anexo 3).
3. Vaciar la solución en la ranura entre los cristales del molde. Dejar polimerizar y evitar dejar burbujas.
4. Después que la polimerización se ha completado, remover el peine cuidadosamente.
5. Empleando una jeringa, lavar con agua destilada los carriles para remover la archilamida no polimerizada.
6. Colocar el gel en la cámara de electroforésis vertical y agregar buffer TBE 1x en los compartimientos superior e inferior.
7. Cargar aproximadamente 16 μ l de cada una de las muestras. Puede utilizar puntillas delgadas o una jeringa Hamilton.
8. Conectar la cámara a la fuente de poder, aplicando inicialmente un voltaje de 80 y después de que las muestras entren incrementar el voltaje a 190 volts.

9. Posteriormente utilice una espátula para separar los vidrios, marque la orientación del gel.

10. Teñir el gel con bromuro de etidio, observar y documentar la imagen.

APÉNDICE C

Preparación de Reactivos⁶¹

↓ TBE 10 x

Tris base	108 gr
Ácido Bórico	55 gr
EDTA	7.4 gr
H ₂ O dest aforar	1 Litro

↓ EDTA 0.5 M pH 8.0

EDTA	186.1 gr
H ₂ O dest aforar	1 Litro

↓ Agarosa al 2%

Agarosa	2 gr
Buffer TBE 1x	100 ml

↓ TE 100x (Tris-EDTA)

Tris-HCl pH 8.0 2 M	25 ml
EDTA pH 8.0 0.5 M	10 ml
H ₂ O dest aforar	50 ml

↓ TSNT (Solución de Lisis Tritón-SDS)

Tritón-100x 2%
SDS 1%
NaCl 100 Mm
Tris-HCl pH 8.0 10 Mm
EDTA pH 8.0 1 mM

↓ SEVAG (24:1)

Cloroformo	24 ml
Alcohol Isoamílico	1 ml

↓ **Persulfato de Amonio (PSA)**

PSA	0.1 gr
H ₂ O miliQ	1 ml

↓ **Archilamida al 30%**

Acrilamida	30 gr
Bisacrilamida	0.8 gr
H ₂ O miliQ	100 ml

↓ **Gel de Poliacrilamida al 12%**

Archilamida al 30%	12 ml
TBE 10x	3 ml
PSA al 10%	0.5 ml
H ₂ O miliQ	14.5 ml
TEMED	0.51 ml

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Karina del Carmen Trujillo Murillo

Candidato para el grado de
Maestro en Ciencias con Especialidad en
Biología Molecular e Ingeniería Genética

Tesis:

FRECUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS G-308A Y G-238A DEL GEN
TNF- α EN PACIENTES CON ESTEATOHEPATITIS NO ALCOHÓLICA
(NASH) ASOCIADA A OBESIDAD

Campo de estudio: Biología Molecular

Biografía:

Datos personales: nacida en Tapachula, Chiapas, el 28 de abril de 1978.

Educación:

Egresada de la Universidad Autónoma de Chiapas.

Grado obtenido: Licenciado Químico Farmacobiólogo en diciembre del 2001.



