

ÍNDICE

CAPÍTULO 1. Técnicas microbiológicas en biotecnología	9
1. Bioseguridad en el laboratorio	9
2. Observación al microscopio de preparaciones fijas	12
2.1. Procedimiento	14
3. Preparación de medios de cultivo y la necesidad de practicar la técnica aséptica	15
3.1. Material	16
3.2. Procedimiento	16
4. Observación morfológica de colonias bacterianas	17
4.1. Material	19
4.2. Procedimiento	20
5. Técnicas de inoculación	21
5.1. Material	22
5.2. Procedimiento	22
6. Tinción de microorganismos	23
6.1. Material	25
6.2. Procedimiento (frotis)	25
6.3. Procedimiento (tinción simple)	26
6.4. Procedimiento (tinción de gram)	26
7. Determinación del número de microorganismos esporógenos en alimentos	27
7.1. Material	27
7.2. Procedimiento (frotis)	27
7.3. Tinción scaeffe-fulton (practica tinción de esporas)	28
8. Evaluación de la actividad bacteriostática y bactericida de diversos compuestos	28
8.1. Material	29
8.2. Procedimiento	29
9. Recuento de bacterias heterótrofas totales en suelo. técnica del número más probable ...	30
9.1. Material	31
9.2. Procedimiento	32
10. Identificación molecular de especies de microorganismos	34
10.1. Material	35
10.2. Procedimiento	35
11. Mapas de restricción	38
11.1. Material	38
11.2. Procedimiento	39

12. Evolución de resistencia a antibióticos en <i>escherichia coli</i>	40
12.1. Material	41
12.2. Procedimiento	41
13. Aislamiento y cuantificación de bacteriófagos de <i>vibrio sp.</i> a partir de moluscos (ensayo en placa)	43
13.1. Material	43
13.1.1. Semana 1	43
13.1.2. Semana 2	44
13.2. Procedimiento	44
13.2.1. Semana 1	44
13.2.2. Semana 2	45
 CAPÍTULO 2. Biología molecular y celular	 49
1. Introducción	49
2. Ácidos nucleicos y proteínas	50
2.1. Estructura del DNA	50
2.2. Estructura del RNA	52
2.3. Estructura de las proteínas	52
3. Replicación transcripción y traducción	55
3.1. Replicación del DNA	55
3.2. El código genético	57
3.2. Transcripción del DNA	58
3.2. Traducción del RNA	58
4. Técnicas básicas de biología molecular	59
4.1. Electroforesis de DNA y proteínas	60
4.1.1. Electroforesis de DNA	60
4.1.2. Electroforesis de proteínas (SDS/PAGE)	61
4.2. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	62
4.3. Blotting	64
4.3.1. Western blotting	64
4.3.2. Southern blotting	65
4.3.3. Northern blotting	66
4.4. Clonación	66
4.4.1. Uso de enzimas de restricción	68
4.4.2. Ligado de extremos cohesivos	68
5. Técnicas básicas de biología celular	69
5.1. Cultivos de células de mamífero	70
5.2. Citometría de flujo	71
5.3. Técnicas microscópicas	73
5.3.1. Microscopía de fluorescencia	73
5.3.2. Inmunofluorescencia	74
5.3.3. Inmunohistoquímica	74
5.3.4. Bioimagen	76
5.3.5. Microscopía de cámara-rápida (time-lapse)	77

5.4. Silenciamiento génico	77
5.4.1. Oligonucleótidos antisentido	77
5.4.2. RNA de interferencia	77
5.4.3. 3' utr y microRNAs	79
5.4.4. CRISPR/cas9	79
6. Conclusiones	79
CAPÍTULO 3. Proteómica y peptidómica	81
1. Introducción	81
2. Proteómica basada en geles	84
2.1. Electroforesis monodimensional (1-DE)	84
2.2. Electroforesis bidimensional (2-DE)	84
3. Proteómica basada en sistemas libres de geles	88
3.1. Proteómica de análisis masivo o “shotgun”	88
3.2. Técnicas para el fraccionamiento de péptidos	89
4. Proteómica cuantitativa basada en el marcaje isotópico	92
4.1. Marcaje químico	93
4.2. Marcaje metabólico	98
5. Proteómica cuantitativa libre de marcaje isotópico	99
5.1. Cuantificación mediante recuento de espectros	101
5.2. Cuantificación por intensidad máxima de los espectros	101
5.3. Análisis independiente de datos (DIA)	102
6. Peptidómica	103
6.1. Peptidómica por afinidad	104
6.2. Peptidómica combinatoria	104
6.3. Determinación del peptidoma mediante espectrometría de masas	105
6.4. Métodos de cuantificación de péptidos	106
7. Aplicaciones de la proteómica y peptidómica en el campo agroalimentario	107
7.1. Autenticación de especies, adulteraciones y trazabilidad en alimentos	108
7.2. Identificación de microorganismos y marcadores de deterioro	109
7.3. Detección de proteínas alergénicas en alimentos	109
7.4. Caracterización de péptidos bioactivos	110
7.5. Péptidos y asociaciones dieta-enfermedad	110
8. Conclusiones	110
CAPÍTULO 4. Metabolómica	111
1. Metabolómica y biología de sistemas	111
1.1. Técnicas analíticas	115
1.1.1. Resonancia magnética nuclear (RMN)	115
1.1.2. Espectrometría de masas (MS)	116
2. Preparación de muestras para el análisis metabolómico	117
2.1. Integridad de la muestra	118

2.2. Procesado de la muestra	119
2.2.1. Homogenización	119
2.2.2. Extracción	119
2.2.3. Limpieza de la muestra (<i>cleanup</i>)	119
3. Análisis metabolómico	120
3.1. Metabolómica dirigida (<i>targeted</i>)	121
3.2. Metabolómica semi-dirigida (<i>semi-targeted</i>)	122
3.3. Metabolómica no dirigida (<i>untargeted</i>)	122
4. Metabolómica en alimentos	126
4.1. Aplicaciones en materias primas	126
4.2. aplicaciones en el procesado	127
4.3. aplicaciones en la interacción de los alimentos con el ser humano	128
BIBLIOGRAFÍA	131