

# Desarrollo de un kit de extracción de ADN genómico bacteriano por método salino con fines comerciales.

Jiménez Vargas, Samantha

2024

---

<https://hdl.handle.net/20.500.11777/6144>

<http://repositorio.iberopuebla.mx/licencia.pdf>

# Desarrollo de un kit de extracción de ADN genómico bacteriano por método salino con fines comerciales

Jiménez Vargas Samantha (séptimo semestre en Ingeniería en Biotecnología)<sup>1,2\*</sup>, Maldonado Calcáneo Ninette Elizabeth (séptimo semestre en Ingeniería en Biotecnología)<sup>2</sup>, Sánchez Ventura José Francisco (séptimo semestre en Ingeniería en Negocios)<sup>2</sup>, Vieyra Vega Diana (séptimo semestre en Ingeniería en Negocios)<sup>2</sup> y López Cruz Lesther Emmanuel (profesor asesor)<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Ecología y Biotecnología Aplicada, Dirección de Investigación y Posgrado, Universidad Iberoamericana Puebla

<sup>2</sup>Universidad Iberoamericana Puebla, San Andrés Cholula, Puebla, México

**Palabras clave:** Ácidos Nucleicos, Bacterias, Comercialización, Purificación.

\***Autor Corresponsal:** samantha.jimenez@iberopuebla.mx

## Introducción

Las bacterias son organismos esenciales para el equilibrio ecológico y múltiples aplicaciones industriales [1], pueden clasificarse en grampositivas, que poseen una pared celular gruesa de peptidoglucano, y gramnegativas, que tienen una pared delgada [2]. El estudio del ADN genómico bacteriano es fundamental en biotecnología, ya que permite identificar al microorganismo a nivel genético y a partir de ello utilizarlo para diversas aplicaciones [1].

Para extraer ADN genómico bacteriano existen varios métodos, cada uno con sus ventajas y costos. Dentro de estos se encuentra el método salino, que utiliza sales para separar proteínas y contaminantes [3]. Por otra parte, los kits comerciales, que emplean soluciones y columnas de sílica para una extracción más rápida y de alta pureza, suelen ser costosos, y limitan su acceso [4-8].

El objetivo del proyecto es desarrollar un kit de extracción de ADN genómico bacteriano mediante un método salino, con un enfoque comercial, para atender la demanda en el área de investigación y desarrollo de tecnología ante la falta de métodos económicos y efectivos.

## Metodología

Se realizó una encuesta cualitativa con una muestra de 40 participantes, compuesta por estudiantes universitarios de Ingeniería en Biotecnología provenientes de Puebla y la Ciudad de México, así como investigadores profesionales. El objetivo de la encuesta fue recopilar información relevante sobre los diferentes kits disponibles en el mercado, su uso, nivel de conocimiento sobre ellos, percepción de precios y otros aspectos clave. Este análisis busca identificar las características óptimas para el desarrollo de nuestro kit.

Posteriormente, se llevó a cabo la fase experimental para el desarrollo de un protocolo óptimo de extracción de ADN genómico bacteriano, adecuado tanto para bacterias grampositivas como gramnegativas, mediante un método salino [9]. Para determinar su eficiencia se realizó un estudio comparativo con otros kits comerciales Purediex Genomic DNA Isolation Kit (Blood/Cultured Cell/Fungus)(Column Based) [Bio-helix], Wizard Genomic DNA Purification Kit A1125 [Promega] y Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep Kit [Zymo Research] utilizando muestras de las cepas de *Bacillus cereus* HV1 (grampositiva) y *Pseudomonas putida* KT2440 (gramnegativa).

Finalmente, se siguió el modelo de análisis de proyectos, que incluye un análisis contextual, técnico, económico y legal para determinar la factibilidad de la comercialización del kit [10]. Dentro de estas fases, se analizaron factores como la oferta actual del mercado, establecimiento del mercado objetivo, presupuestos, definición de los costos de producción y fijos, cálculo de la estructura de capital y de prefactibilidad. Estos factores permitieron determinar la viabilidad comercial del producto.

## Resultados

El kit de extracción de ADN desarrollado demostró efectividad en la obtención ADN de bacterias grampositivas y gramnegativas con un protocolo único, esto se pudo observar mediante una electroforesis en gel de agarosa al 1% y la amplificación del gen 16s ARNr por método de PCR (Figura 1.).

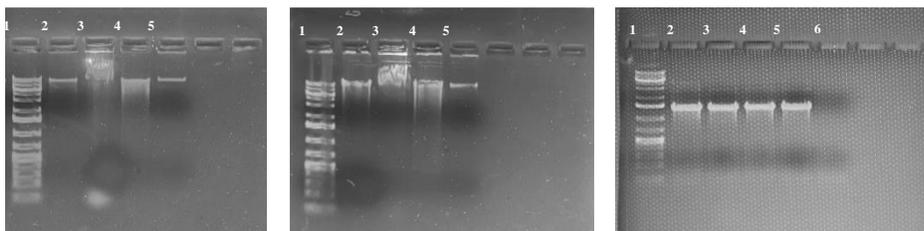


Figura 1. a) Extracción de ADN con diferentes kits en gel de agarosa al 1% para cepa *Bacillus cereus* HV1. Carril 1. Marcador de Peso Molecular; Carril 2. Purediex Genomic DNA Isolation Kit (Blood/Cultured Cell/Fungus) (Column Based) [Bio-helix]; Carril 3. Wizard Genomic DNA Purification Kit A1125 [Promega]; Carril 4. Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep Kit [Zymo Research]; Carril 5. kit desarrollado. b) Extracción de ADN con diferentes kits en gel de agarosa al 1% para cepa *Pseudomonas putida* KT2440. Carril 1. Marcador de Peso Molecular; Carril 2. Purediex Genomic DNA Isolation Kit (Blood/Cultured Cell/Fungus) (Column Based) [Bio-helix]; Carril 3. Wizard Genomic DNA Purification Kit A1125 [Promega]; Carril 4. Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep Kit [Zymo Research]; Carril 5. kit desarrollado. c) Amplificación del gen 16s ARNr de 1496 pb en gel de agarosa al 1%. Carril 1. Marcador de Peso Molecular; Carril 2 y 3. Producto de PCR del gen 16s de cepa *Pseudomonas putida* KT2440. Carril 4 y 5. Producto de PCR del gen 16s de cepa *Bacillus cereus* HV1 Carril 6. Control.

Tras realizar los análisis correspondientes para evaluar la viabilidad de la producción y comercialización del kit de extracción, se concluyó que el proyecto es altamente factible, rentable y con potencial de escalabilidad. Esta viabilidad se atribuye, en gran medida, a los bajos costos de producción y distribución asociados con su manufactura nacional. Además, el estudio de mercado llevado a cabo mediante encuestas confirmó la existencia de un mercado con una demanda significativa para este producto, actualmente dominado en su mayoría por fabricantes extranjeros.

### Análisis de resultados

Las bandas observadas en los geles de agarosa correspondientes al ADN genómico bacteriano extraído con el kit desarrollado (Figura 1a,1b) presentan una mejor definición en comparación con las obtenidas mediante kits y están libres de otros ácidos nucleicos, como el ARN, lo que sugiere una mayor integridad del ADN obtenido. Asimismo, es posible realizar una amplificación de genes por el método de PCR (Figura 1c) sin que se generen dimerizaciones o subproductos no esperados al fragmento correspondiente de ADN.

Las concentraciones de ADN genómico para *Bacillus cereus* HV1 y *Pseudomonas putida* KT2440 registraron valores promedio de 234.1ng/μl y 140.05ng/μl respectivamente; la calidad y pureza del material genético entre las longitudes de onda 260/280 en el rango de absorbancia de las muestras presenta un estimado de 1.87 de densidad óptica.

Asimismo, los resultados obtenidos fueron significativamente superiores a las expectativas financieras iniciales. El análisis de costos de producción reveló un margen de utilidad considerablemente alto para el kit de extracción, lo que permite ofrecer un producto no solo altamente funcional, sino también competitivo en términos de precio. En comparación con los kits disponibles en el mercado, caracterizados por precios elevados y largos tiempos de distribución, este kit desarrollado representa una alternativa accesible y eficiente. Estas características proporcionan una ventaja competitiva notable en el ámbito local y nacional, consolidando su atractivo para los consumidores.

### Conclusiones

La alta calidad del ADN obtenido indica que el método salino es una alternativa viable para extraer ADN con una pureza adecuada a un costo reducido para bacterias gramnegativas y grampositivas con un protocolo universal. Además, el proyecto fomenta la independencia de insumos importados y apoya el avance científico en entornos con recursos limitados.

Por otra parte, existe una necesidad tangible y un alto grado de aceptación en el mercado para este futuro producto. Los resultados de las encuestas destacan que la industria cuenta con opciones limitadas y presenta barreras de acceso significativas, derivadas de procesos lentos y poco transparentes impuestos por los proveedores. Estas condiciones representan una oportunidad estratégica para generar un sólido impulso inicial al incursionar en este mercado, facilitando el cumplimiento de nuestros objetivos principales: ofrecer un producto accesible, funcional y alineado con las necesidades del sector.

## Referencias

1. O. L. Ostos-Ortíz, S. M. Rosas-Arango, and J. L. González-Devia, "Aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos," *Nova*, vol. 17, no. 31, pp. 129-163, 2019. [Online]. Available: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1794-24702019000100129&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702019000100129&lng=en&tlng=es).
2. N. Morales, "Diferenciando Bacterias Gram Positivo (+) y Gram Negativo (-) Mediante Tinción de Gram," Unidades de Apoyo para el Aprendizaje. CUAED/FES Iztacala-UNAM, 2018. [Online]. Available: [https://repositorio-uapa.cuaieed.unam.mx/repositorio/moodle/pluginfile.php/2889/mod\\_resource/content/1/UAPA-Diferenciando-Bacterias-Gram/index.html](https://repositorio-uapa.cuaieed.unam.mx/repositorio/moodle/pluginfile.php/2889/mod_resource/content/1/UAPA-Diferenciando-Bacterias-Gram/index.html)
3. S. M. Aljanabi and I. Martinez, "Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques," *Nucleic Acids Res.*, vol. 25, no. 22, pp. 4692-4693, 1997. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1093/nar/25.22.4692>
4. K. Guimaraes, "DNA extraction (Salting out) protocol metadata," protocols.io, 2018. [Online]. Available: <https://www.protocols.io/view/dna-extraction-salting-out-vv9e696/metadata>
5. A. Javadi, M. Shamaei, L. M. Ziazi, M. Pourabdollah, A. Dorudinia, S. M. Seyedmehdi, and S. Karimi, "Qualification Study of Two Genomic DNA Extraction Methods in Different Clinical Samples," *PubMed Central (PMC)*, 2014. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4386014/>
6. Promega, "Wizard® Genomic DNA Purification Kit," Promega.com. [Online]. Available: <https://worldwide.promega.com/products/nucleic-acid-extraction/genomic-dna/wizard-genomic-dna-purification-kit/?catNum=A1120#protocols>.
7. Promega, "ReliaPrePTM Blood GDNA MiniPreP System | DNA Extraction Kit | ProMegA," Promega.com. [Online]. Available: <https://worldwide.promega.com/products/nucleic-acid-extraction/genomic-dna/reliaprep-blood-gdna-miniprep-system/?catNum=A5081>.
8. Thermo Scientific™, "Silica Bead DNA Gel Extraction Kit," Fisher Scientific. [Online]. Available: <https://www.fishersci.es/shop/products/fermentas-silica-bead-dna-gel-extraction-kit/10202540>.
9. N. M. Lopera-Barrero, J. A. Povh, R. P. Ribeiro, P. C. Gomes, C. B. Jacometo, y T. da Silva Lopes, "Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con cloruro de sodio," *Cien. Inv. Agr.*, vol. 35, no. 1, pp. 77-86, 2008.
10. G. Baca Urbina y Mc Graw Hill, *EVALUACIÓN DE PROYECTOS*, 9na edición. 2022. [En línea]. Disponible en: <https://www.mheducation.com.mx/evaluacion-de-proyectos-9786071517555-latam-group>