

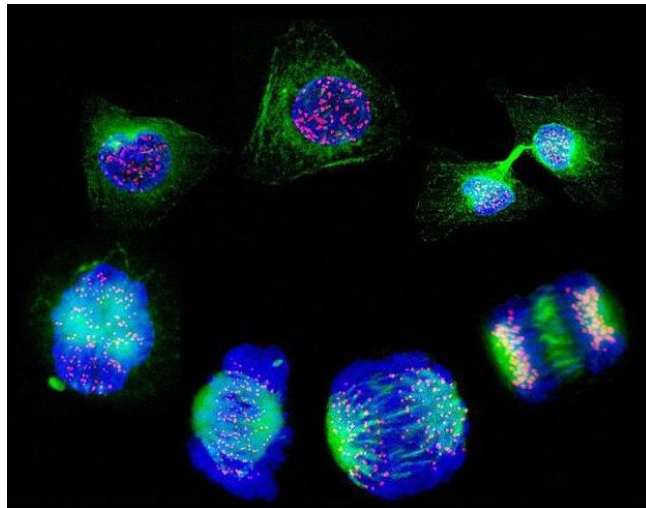


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS

LICENCIATURA EN BIOFISICA



LABORATORIO DE BIOLOGIA CELULAR

AUTORES:

L.Q. YOLANDA REBOLLOSO GÓMEZ

DRA. VANESA OLIVARES ILLANA

ALUMNO:

PREFACIO

La biología celular es una ciencia fundamentada y reconocida como disciplina básica, que explora los procesos internos de la célula, describiendo todas las estructuras y características de las células (animales, vegetales, y seres unicelulares), las modificaciones en el curso de la vida de las células, su diversidad dentro de estos seres o a lo largo del desarrollo embrionario. Actualmente, la biología celular, forma parte de los campos más importantes de la biología. El estudio de las propiedades de la célula permite comprender el funcionamiento y la constitución de las estructuras pluricelulares. Así, de ser una ciencia descriptiva, la biología celular se ha transformado en ciencia experimental, con el objetivo esencial de mejorar la comprensión de las estructuras y de los mecanismos a nivel celular y molecular. De esta manera, los experimentos incluidos están diseñados para realizarse en las instalaciones y con equipos de laboratorio con que cuenta la facultad. Asimismo, la metodología incluida puede ser abordada por los estudiantes, permitiéndoles desarrollar sus habilidades en la medida de su propio interés e iniciativa, permitiendo el razonamiento, ya sea en trabajo individual o colectivo.

La actividad experimental es uno de los aspectos clave en el proceso de enseñanza y aprendizaje de las ciencias tanto por la fundamentación teórica que puede aportar a los estudiantes, como por el desarrollo de ciertas habilidades y destrezas para las cuales el trabajo experimental es fundamental. Hacen mucho más que apoyar las clases teóricas de cualquier área del conocimiento; su papel es importante en cuanto despierta y desarrolla la curiosidad de los estudiantes, ayudándolos a resolver problemas y a explicar y comprender los fenómenos con los cuales interactúan en su cotidianidad. Una clase teórica de ciencias, de la mano de la enseñanza experimental creativa y continua, puede aportar al desarrollo en los estudiantes de algunas de las habilidades que exige la construcción de conocimiento científico.

El presente manual de prácticas para el Laboratorio de Biología Celular ha sido diseñado para facilitar el aprendizaje a los estudiantes que se inician en el campo de estudio de las ciencias biológicas, contemplando una serie de trabajos de laboratorio sencillos, fáciles de realizar, dinámicos y debidamente organizados de acuerdo al programa teórico de Biología Celular que recibe el estudiante de la Licenciatura en Biofísica. Sin embargo, los temas propuestos corresponden a una pequeña parte de la información que deberá manejar el estudiante en forma práctica, por lo que al transcurrir el tiempo, será necesario aumentar la propuesta de actividades prácticas.

Cada práctica incluye una breve revisión teórica, sin la intención de suplir los libros de texto, que contienen información más detallada. En la evaluación del aprendizaje se consideran la realización de prácticas, participación, entrega de reportes escritos y exámenes teóricos. Además, este manual de prácticas para el Laboratorio de Biología Celular incluye la preparación de algunas soluciones empleadas y un listado de bibliografía sugerida.

CONTENIDO

1. PERSONALES	4
2. INSTALACIONES DEL LABORATORIO	4
3. REACTIVOS.....	5
4. EQUIPOS	5
5. MATERIAL DE VIDRIO	5
GUÍA PARA LA ELABORACIÓN DEL REPORTE DE LABORATORIO	7
PRACTICA1. CELULAS PROCARIOTAS Y EUCARIOTAS.....	8
EXPERIMENTO #1: OBSERVACIÓN DE CELULAS PROCARIOTAS. TINCIÓN DE GRAM	9
EXPERIMENTO #2: OBSERVACIÓN DE CELULAS EUCARIOTAS VEGETALES	11
PRACTICA2. EFECTO DE LA OSMOSIS.....	12
EXPERIMENTO #1. EPIDERMIS DE CEBOLLA MORADA	13
EXPERIMENTO #2. MUESTRA DE SANGRE.....	13
PRACTICA3. ENZIMA CATALASA	15
EXPERIMENTO #1. PRESENCIA DE LA ENZIMA CATALASA	16
EXPERIMENTO #2. ACCIÓN DE LA TEMPERATURA SOBRE LA ENZIMA CATALASA.....	16
PRACTICA4. EXTRACCIÓN DEL ADN VEGETAL	18

NORMAS GENERALES DE SEGURIDAD

Un accidente es una situación inesperada. Por lo tanto, cuando hay trabajos peligrosos, todas las precauciones útiles deben tomarse en cuenta, eduque sus reflejos, no se deje sorprender si los reactivos o los aparatos que maneja no son peligrosos.

1. PERSONALES

- 1.1 La asistencia al laboratorio es obligatoria.
- 1.2 El alumno tiene la obligación de cumplir con el horario establecido. No se permitirá la entrada a aquellos alumnos que lleguen después del comienzo de la práctica.
- 1.3 Los alumnos que no estén presentes en la sesión del laboratorio no podrán entregar reporte escrito.
- 1.4 Los alumnos deberán tener una conducta apropiada durante todo el desarrollo de la práctica y acatar las normas e instrucciones de los profesores a cargo del grupo.
- 1.5 Será responsabilidad del alumno, leer con anterioridad la práctica que se realizará para que se informe sobre el manejo del equipo, sustancias y procedimientos que se utilizarán.
- 1.6 Una vez que se inicia la sesión el alumno deberá permanecer atento y seguir las indicaciones dadas por el docente.
- 1.7 Use siempre una bata blanca de manga larga, algodón y perfectamente abotonada en el laboratorio. En ningún caso use bata hecha de fibras sintéticas (tergal, nylon, etc.) en caso de incendio estos tejidos se funden y se pegan a la piel aumentando considerablemente la gravedad de las quemaduras. Es aconsejable evitar el uso de ropa hecha con estas fibras. Ningún alumno sin bata será admitido en el laboratorio.
- 1.8 Siempre que esté en sesión de laboratorio proteja sus ojos con lentes de seguridad.
- 1.9 Tenga siempre protegidas sus manos con guantes, de las diferentes sustancias químicas que utiliza.
- 1.10 Quienes usen cabello largo, mantenerlo recogido para evitar accidentes.
- 1.11 Trabaje ordenadamente y en silencio.
- 1.12 Una vez concluida su sesión de laboratorio lavarse manos con agua y jabón.

2. INSTALACIONES DEL LABORATORIO

- 2.1 Queda prohibido comer, ingerir bebidas, manipular lentes de contacto, fumar y la aplicación de cosméticos en el laboratorio.
- 2.2 Al finalizar cada sesión la mesa de trabajo deberá quedar limpia sin escurrimientos de reactivos o sustancias. Y en orden.
- 2.3 Queda prohibido cualquier tipo de distractores. Para evitar accidentes durante el desarrollo de la practica. Los celulares y dispositivos para escuchar música deberán permanecer apagados.
- 2.4 Haga bajo la campana todas las manipulaciones que lo ameriten. Cuando termine una reacción, deje la campana funcionar suficiente tiempo para permitir la evacuación total de los gases.
- 2.5 Evite correr dentro de las instalaciones del laboratorio, ya que puede ocasionar algún tipo de accidente.

3. REACTIVOS

- 3.1 Al finalizar cada sesión de trabajo se deberá vigilar que los reactivos queden en el lugar que les corresponde y perfectamente tapados.
- 3.2 No guarde reactivos ni soluciones en matraces aforados u otro material de vidrio de uso cotidiano en el laboratorio. Utilice los recipientes adecuados.
- 3.3 Evite pipetear cualquier tipo de reactivo o sustancia con la boca, utilice los pipeteadores adecuados.

4. EQUIPOS

- 4.1 **BALANZA:** Debe estar completamente limpia antes de pesar cualquier sustancia y una vez utilizada debe tener cuidado de mantenerla en condiciones excelentes de limpieza. Evite derramar líquidos o sustancias corrosivas sobre la balanza.
- 4.2 **CENTRIFUGA:** Es recomendable secar las centrífugas refrigeradas después de una hora de haber sido utilizadas. Los rotores y tubos de centrifuga deben ser lavados con agua destilada después de su uso. No utilice solventes orgánicos en los tubos de centrifuga para lavarlos o realizar centrifugaciones si antes no ha consultado la resistencia del tipo de tubo a dicho solvente. Chequee la velocidad máxima permitida para el rotor que va a utilizar. Así mismo, chequee el modelo de centrifuga en el cual es posible utilizar el rotor.
- 4.3 Los equipos deben ser mantenidos completamente limpios después de haber sido utilizados.
- 4.4 Si no sabe cómo opera un equipo, solicite el catálogo de funcionamiento o que se le enseñe a operarlo.

5. MATERIAL DE VIDRIO

- 5.1 El material de vidrio debe ser colocado en su sitio después de haber sido utilizado.
- 5.2 Lave el material de vidrio cuidadosamente y enjuáguelo al menos tres veces con agua destilada.
- 5.3 Si utilizó material de vidrio con sustancias u organismos contaminantes, debe **ASEGURARSE DE LAVARLO PREVIAMENTE CON CLORO** o con hipoclorito de sodio u otro producto desinfectante antes de colocarlo en el fregadero. Trate de utilizar guantes al lavar el material.
- 5.4 No utilice material de vidrio roto y cuando se rompa algún material, sepárelo del resto y repórtelo.

6. CIRCUNSTANCIAS DE PELIGRO

- 6.1 En caso de alguna emergencia (fuego, escape de gas, etc.) se deberá abandonar el laboratorio con estricto orden y siguiendo las indicaciones del docente.
- 6.2 Llamar a los siguientes números telefónicos:

Cruz Roja
815 3322, 815 3635 y 065

IMSS
812 0162

ISSSTE
815 4023

Bomberos
815 3583 y 815 8090

Emergencia policiaca
911

Protección Civil UASLP
814 99 42

Seguridad Universitaria
826 23 85

Centro de Salud Universitario
826 23 66 / 826 23 67

GUÍA PARA LA ELABORACIÓN DEL REPORTE DE LABORATORIO

1. Número y nombre de la práctica
2. Objetivo específico de su práctica
 - 2.1 Debe responder a las preguntas ¿Qué? Y ¿Para qué?
3. Fundamento de las técnicas y/o aparatos empleados
 - 3.1 Principio teórico que sustenta la técnica
 - 3.2 Principios básicos del funcionamiento del aparato
4. Muestras Biológicas (en el caso que se requiera)
5. Materiales
6. Reactivos
 - 6.1 Indique las concentraciones
7. Equipos
8. Procedimiento
 - 8.1 Sucesión cronológica de los pasos que se deben realizar a lo largo de la práctica
9. Resultados y cuestionario
10. Conclusiones
 - 10.1 En función de los objetivos, indicar si los mismos han sido alcanzados y el grado de complejidad para obtenerlos.
 - 10.2 Con base en sus resultados, indique cuáles serían las conclusiones de esta práctica.
 - 10.3 Señalar objetivamente los errores observados y las limitantes de las técnicas y método empleado.
 - 10.4 En función de las limitaciones y errores observados proponer alternativas para optimizar el método.
11. Referencias Bibliográficas
 - 11.1 **Libros:** Nombres y Apellidos de los autores, "Titulo de la obra", Casa Editorial, Edición, Lugar de Edición (Ciudad, País), Año de edición, paginas consultadas.
 - 11.2 **Publicaciones Periódicas:** Nombres y Apellidos de los autores, Nombre de la publicación, Volumen, Número, Año, paginas inicial-final del artículo consultado.
 - 11.3 **Páginas de Internet:** Autor del artículo, "Titulo de la obra", Dirección de la pagina, Lugar de Edición (Organización, Ciudad, País).

PRACTICA1. CELULAS PROCARIOTAS Y EUCARIOTAS

OBJETIVOS

El alumno obtendrá los conocimientos necesarios para poder observar en el microscopio, tanto células procariotas como células eucariotas. Y a su vez determinar las diferencias morfológicas fundamentales entre ambas.

INTRODUCCIÓN

Los seres vivos están formados por células; algunos pluricelulares, como las plantas y los animales, pero otros como las bacterias, son unicelulares y por lo tanto invisibles, por lo que no pudieron ser observados hasta la introducción del microscopio. Existen dos clases de células: las células procariotas (las bacterias) y las eucariotas.

Las células procariotas (las bacterias) son microorganismos los cuales no resulta fácil distinguir al microscopio, esto porque poseen poco contraste, de aquí la necesidad de teñirlos con la finalidad de aumentar el contraste con su entorno. Algunos métodos complejos de coloración dan incluso la posibilidad de diferenciar unas bacterias de otras, y estudiar particularidades de la estructura de las células bacterianas. Un ejemplo de éstos es la tinción desarrollada por Christian Gram en 1884. Que nos permite agrupar a las bacterias en Gram positivas y Gram negativas, dependiendo de la cantidad de peptidoglucano que haya en su pared celular.

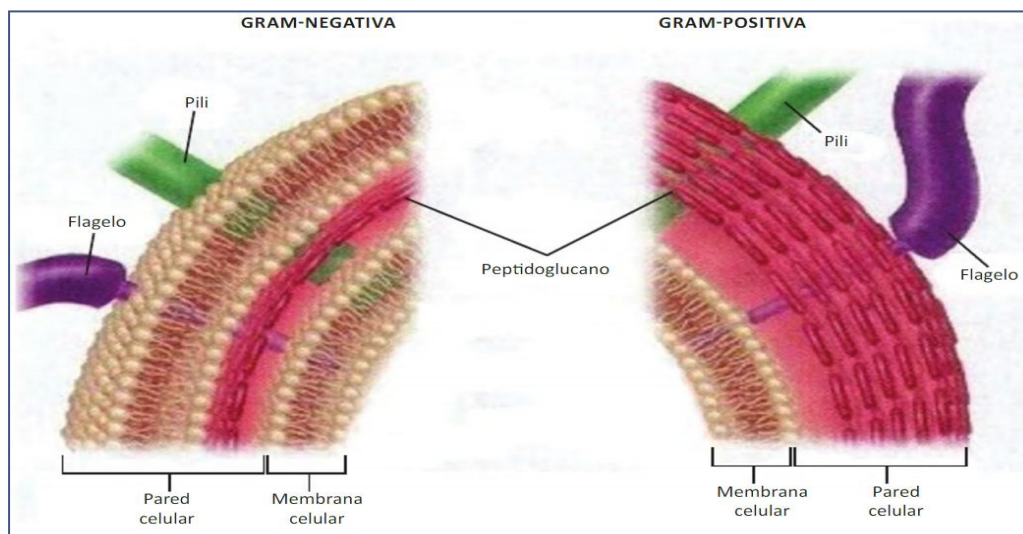


Figura 1. Esquema donde se comparan las paredes celulares de las eubacterias Gram negativa y Gram positiva. [Angulo *et al.*, 2012].

Las células eucariotas se pueden observar fácilmente con ayuda del microscopio, basta con realizar algún corte delgado del espécimen y realizar la preparación para poder observarlo.

MUESTRA (Proporcionado por el alumno)*

Material biológico (se les proporcionará en el laboratorio)
Cebolla pequeña*

MATERIAL

Pinzas de disección
Portaobjetos
Asas de siembra
Algodón
Navajas

REACTIVOS

Agua destilada
Alcohol
Aceite de Inmersión
Solución limpia objetivos
Cristal violeta
Lugol
Alcohol-acetona
Safranina

EQUIPO

Mechero
Microscopio óptico compuesto

EXPERIMENTO #1: OBSERVACIÓN DE CELULAS PROCARIOTAS. TINCIÓN DE GRAM**OBJETIVO ESPECIFICO**

Aprender a desarrollar de manera adecuada la tinción de Gram. Y de esta manera observar y diferenciar entre bacterias Gram positivas y Gram negativas. Y a su vez conocer la importancia sobre el objetivo de inmersión 100X.

FROTIS A PARTIR DE UN CULTIVO EN MEDIO SÓLIDO**PROCEDIMIENTO**

1. Marcar en un extremo los portaobjetos limpios y desengrasados.
2. Esterilizar el asa al rojo vivo en la flama del mechero.
3. Colocar con el asa una pequeña gota de agua estéril en el centro del portaobjeto.
4. Esterilizar el asa por incineración, dejar enfriar y tomar con esta un fragmento del crecimiento de la colonia. Hacer una suspensión homogénea en la gota de agua, extendiéndola hasta formar una película delgada sobre el portaobjeto.
5. Dejar secar al aire.
6. Esterilizar de nuevo el asa.
7. Fijar el frotis por calor, pasando la preparación por la llama del mechero, por lo menos tres veces.

FROTIS A PARTIR DE UN CULTIVO EN MEDIO LÍQUIDO

PROCEDIMIENTO

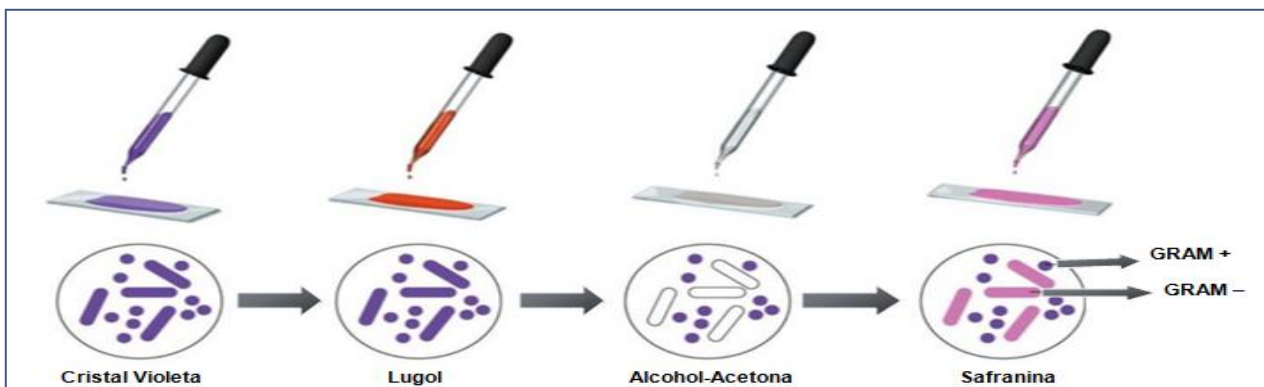
1. Marcar en un extremo los portaobjetos limpios y desengrasados.
2. Esterilizar el asa al rojo vivo en la flama del mechero.
3. Tomar con el asa estéril una gota de cultivo y colocarla en el centro del portaobjetos, extendiéndola hasta formar una película delgada y uniforme.
4. Dejar secar al aire.
5. Esterilizar de nuevo el asa.
6. Fijar la preparación al calor, pasando el portaobjetos 2 ó 3 veces a la flama del mechero.



TÉCNICA DE COLORACIÓN DE GRAM

PROCEDIMIENTO

1. Preparar frotis delgados e individuales de cada espécimen.
2. Cubrir la preparación con cristal violeta durante un minuto.
3. Escurrir y lavar los portaobjetos en una corriente suave de agua de la pisseta durante cinco segundos.
4. Cubrir la preparación con lugol durante un minuto.
5. Escurrir y lavar como se indicó en el paso 3.
6. Aplicar lentamente el alcohol-acetona, gota a gota hasta que la tintura ya no fluya del frotis.
7. Escurrir y lavar nuevamente con agua como en el punto 3.
8. Cubrir con safranina por 30 segundos.
9. Escurrir y lavar nuevamente con agua como en el punto 3.
10. Dejar secar al aire, o bien utilizar papel filtro.
11. Observar al microscopio con objetivo de inmersión 100X.



RESULTADOS Y CUESTIONARIO

1. La Tinción de Gram nos separa a los microorganismos en dos grupos. ¿Cuáles son?
2. ¿De qué color se tiñen los microorganismos Gram Positivos?
3. ¿De qué color se tiñen los microorganismos Gram Negativos?
4. ¿Por qué es necesario observar a las bacterias utilizando métodos de coloración y el lente de inmersión en microscopía óptica?
5. Anexe el dibujo del campo observado al realizar la Tinción de Gram a la suspensión bacteriana.

EXPERIMENTO #2: OBSERVACIÓN DE CELULAS EUCARIOTAS VEGETALES

OBJETIVO ESPECIFICO

Reconocer las formas y estructuras de las células eucariotas vegetales y al mismo tiempo desarrollar la habilidad sobre el manejo del microscopio óptico.

PROCEDIMIENTO

1. Marcar los portaobjetos limpios y desengrasados.
2. Colocar la muestra a observar en la parte central del portaobjetos:
 - a) **Muestra Vegetal:** Hacer un corte delgado de la muestra y cubrirla con una gota de agua.
3. Coloca el cubreobjetos encima de la preparación.
4. Observar al microscopio

RESULTADOS Y CUESTIONARIO

1. Anexe el dibujo del campo observado

BIBLIOGRAFIA SUGERIDA

Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case. (2007). Introducción a la microbiología. Buenos Aires: Médica Panamericana.

Prats, G. (2006). *Microbiología Clínica*. Madrid: Médica Panamericana.

Angulo, A.A., Galindo, A.R., Avendaño, R.C., & Pérez, C. (2012). *Biología Celular*. Culiacán, Sinaloa, México: Once Ríos.

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2010). *Biología molecular de LA CÉLULA*. Barcelona: OMEGA

PRACTICA2. EFECTO DE LA OSMOSIS

OBJETIVOS

1. Comprender la estructura y los diferentes mecanismos de transporte a través de la membrana celular
2. Comprender el proceso de ósmosis
3. Experimentar la ósmosis en soluciones e identificar cuáles son isotónicas, hipotónicas e hipertónicas y los efectos de plasmólisis y turgencia

INTRODUCCIÓN

La membrana plasmática tiene la importante función de regular la entrada y salida de sustancias dentro y fuera del citoplasma ya que tiene una composición normal que necesita mantenerse constante.

La bicapa lipídica de la membrana actúa como una barrera que separa dos medios acuosos, el medio donde vive la célula y el medio interno celular. Las células requieren nutrientes del exterior y deben eliminar sustancias de desecho procedentes del metabolismo y de esta manera mantener estable su medio interno. Su permeabilidad es selectiva, ya que permite el paso de pequeñas moléculas y bloquea el paso de otras.

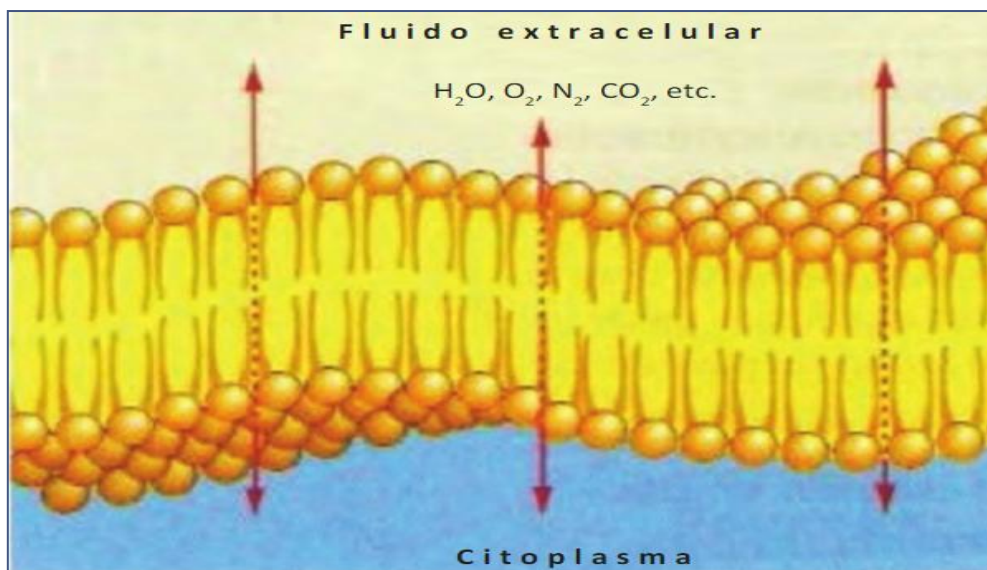


Figura 2. Difusión simple a través de la bicapa lipídica. [Angulo *et al.*, 2012].

La Osmosis es un tipo de difusión simple, donde las moléculas de agua siguen su gradiente de concentración y se mueven de un área donde su concentración es alta a un área donde su concentración es baja.

MUESTRA (Proporcionado por el alumno)*

Cebolla morada pequeña*

MATERIAL

Cajas de Petri
Pipetas graduadas
Pipetas Pasteur
Navajas de un filo
Portaobjetos
Cubreobjetos

REACTIVOS

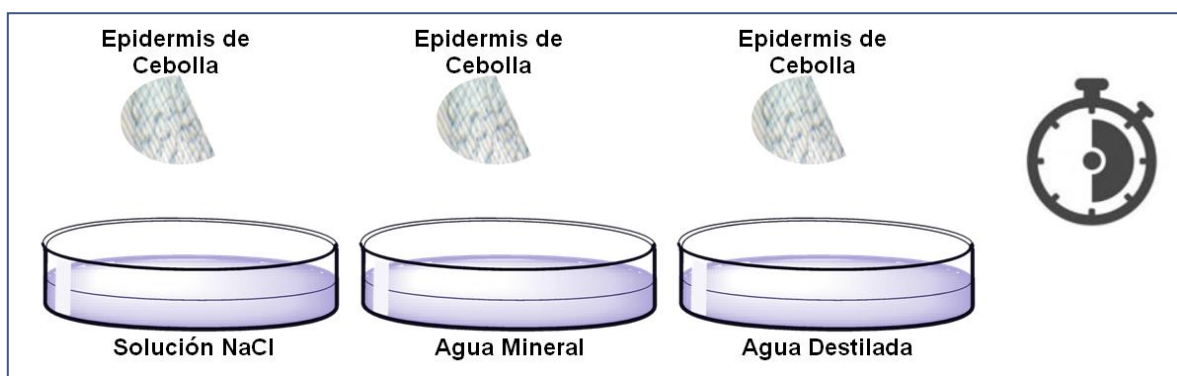
Agua Destilada
Agua Mineral
NaCl

EQUIPO

Microscopio óptico

EXPERIMENTO #1. EPIDERMIS DE CEBOLLA MORADA**PROCEDIMIENTO**

1. Prepare 20 mL de una solución saturada de NaCl.
2. Adicione 10 mL de la solución saturada de NaCl en una caja de Petri, también adicione 10 mL de agua mineral en una caja diferente y en otra caja de Petri adicione 10 mL de agua destilada. Cuide que las cajas estén correctamente etiquetadas.
3. Deposité un fragmento (del mismo tamaño) de epidermis de cebolla en cada una de las cajas de Petri y deje transcurrir 30 minutos. Es importante que las soluciones cubran por completo los fragmentos de epidermis.
4. Retire el fragmento de epidermis y colóquelo en un portaobjetos con un poco de la solución en la que se encontraba.
5. Observe al microscopio en 10X y 40X.

**EXPERIMENTO #2. MUESTRA DE SANGRE**

PROCEDIMIENTO

1. De las soluciones que se emplearon para el experimento #1, tome una gota de cada una y deposítelas en diferentes vidrios de reloj. Utilice un vidrio de reloj para cada solución.
2. Con una torunda de algodón y etanol al 70% desinfecte la yema de su dedo índice.
3. Pique la yema de su dedo con una lanceta estéril, coloque una gota de sangre en cada uno de los vidrios de reloj que ya contenían las soluciones.
4. Coloque una gota de la suspensión celular en un portaobjetos y, posteriormente, coloque un cubreobjetos.
5. Observe al microscopio a 10X y 40X.

RESULTADOS Y CUESTIONARIO

1. Elabora dos esquemas representativos de células en soluciones Isotónicas, Hipertónicas e Hipotónicas. Describa la observación en cada uno
2. Determinar en qué tipo de soluciones experimentadas se observó el fenómeno de plasmólisis, turgencia o equilibrio
3. Explica cómo puedes clasificar el tipo de solución (cuando y porque sale o entra agua a las células)
4. Elabore un esquema de lo que observó y explique.

BIBLIOGRAFIA SUGERIDA

Peter Atkins, Loretta Jones. (2006). Principios de Química: Los caminos del descubrimiento. Buenos Aires: Médica Panamericana.

Matthew N. Levy, Bruce M. Koeppen, Bruce A. Stanton. (2006). Berne Y Levy Fisiología. España: Elsevier España.

Angulo, A.A., Galindo, A.R., Avendaño, R.C., & Pérez, C. (2012). Biología Celular. Culiacán, Sinaloa, México: Once Ríos.

Bruce Alberts, Dennis Bray, Karel Hopkin, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter. (2006). Introducción a la Biología Celular. Buenos Aires: Médica Panamericana.

PRACTICA3. ENZIMA CATALASA

OBJETIVOS

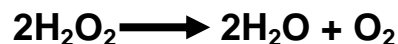
Poner de manifiesto la presencia de la enzima catalasa contenida en las próximas de algunos tejidos animales y vegetales. Y comprobar la acción de la temperatura sobre la acción de la misma.

INTRODUCCIÓN

Todas las células eucariotas tienen peroxisomas. Los cuales contienen enzimas oxidativas, como la catalasa y la urato oxidasa. Los peroxisomas se denominan así porque generalmente contienen una o más enzimas que utilizan oxígeno molecular para eliminar átomos de hidrógeno de sustratos orgánicos específicos (designados como R) a través de una reacción de oxidación que produce peróxido de hidrógeno (H_2O_2).



La catalasa utiliza el peróxido de hidrógeno generado por otras enzimas del orgánulo para oxidar sustancias como fenoles, ácido fórmico, formaldehído y alcohol. Este tipo de oxidación es particularmente importante en el hígado y en las células de riñón, donde los peroxisomas destoxifican una gran variedad de moléculas tóxicas. Además, cuando se acumula en exceso de H_2O_2 en la célula la catalasa lo transforma en H_2O mediante la siguiente reacción:



MUESTRAS (Proporcionado por el alumno)*

Tejidos de origen animal, crudos y cocidos (hígado y riñón de res o de cerdo)*

Tejidos de origen vegetal, crudos y cocidos (apio y rábano)*

MATERIAL

Probeta de 50 ml

Gradilla

Tubos de ensayo

Pipetas

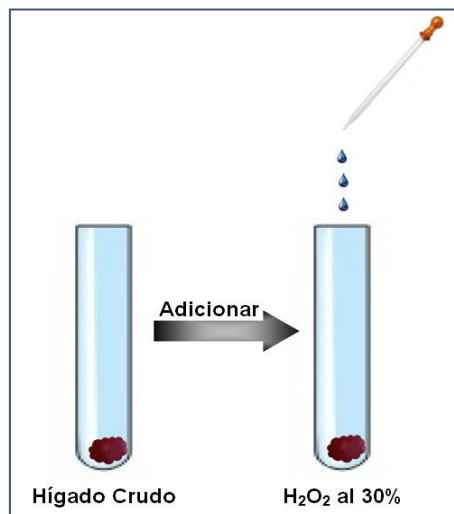
Pinzas para tubo de ensayo

REACTIVOS

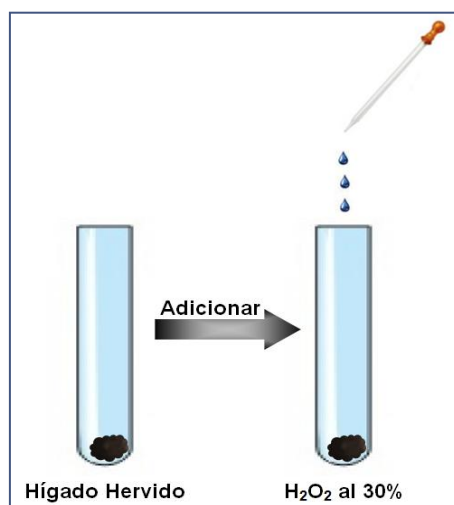
Peróxido de hidrógeno al 30%

EXPERIMENTO #1. PRESENCIA DE LA ENZIMA CATALASA**PROCEDIMIENTO**

1. Realizar cortes de los tejidos animales y vegetales crudos, evitando tocarlos con las manos y que se toquen entre sí.
2. Con las pinzas de disección tomar cada uno de los fragmentos de tejido y colocarlos en tubos de ensaye diferentes.
3. Con ayuda de una pipeta añadir peróxido de hidrógeno al 30% a cada uno de los tubos, observa lo que ocurre.

**EXPERIMENTO #2. ACCIÓN DE LA TEMPERATURA SOBRE LA ENZIMA CATALASA****PROCEDIMIENTO**

1. Repetir el procedimiento del punto número 1, pero ahora utilizando los cortes de tejidos animales y vegetales cocidos. Observa los resultados.



RESULTADOS Y CUESTIONARIO

1. ¿Qué se puede inferir de los resultados obtenidos, sobre la actividad de la catalasa en los tejidos crudos y cocidos?
2. Explica porque el agua oxigenada se utiliza como desinfectante.

BIBLIOGRAFIA SUGERIDA

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2010). Biología molecular de LA CÉLULA. Barcelona: OMEGA.

Donald Voet, Judith G. Voet, Charlotte W. Pratt. (2007). Fundamentos de Bioquímica La vida a nivel molecular. Buenos Aires: Médica Panamericana.

Elmer W. Koneman, Stephen Allen. (2008). Koneman. Diagnostico Microbiologico. Buenos Aires: Médica Panamericana.

PRACTICA 4. EXTRACCIÓN DEL ADN VEGETAL

OBJETIVOS

El alumno aislará y observará el ADN extraído de forma rudimentaria.

INTRODUCCIÓN

En el núcleo se encuentra el ADN genómico o genoma de la célula. Este es el conjunto de información genética que un organismo lleva en su ADN. El genoma contiene unos 25,000 genes, codificados en el ADN. El ADN en cada célula contiene todas las instrucciones necesarias para dirigir el crecimiento y el desarrollo de las células, para moldear un organismo y para mantener las células en funcionamiento mientras viva el individuo.

El aislamiento del ADN es el principio de muchos métodos usados en la ingeniería genética, como la transformación, secuenciación, mapeo físico, etc. La extracción de los ácidos nucleicos implica una serie de etapas básicas.

MUESTRAS (Proporcionado por el alumno)*

Muestra vegetal (cebolla, tomate, plátano, etc.)*

MATERIAL

Cuchillo
Colador
Vasos de precipitado
Probetas
Pipetas serológicas
Tubos de ensayo
Agitadores de vidrio
Espátulas

EQUIPO

Balanza analítica
Procesador de alimentos

REACTIVOS

Agua destilada
Cloruro de sodio (sal de mesa)
Alcohol isoamílico frío
Bicarbonato de sodio
Detergente líquido
Hielo triturado

PROCEDIMIENTO

1. Preparar el buffer mezclando los siguientes ingredientes en un vaso de precipitado y mantener en un baño de hielo triturado:
120 ml de agua destilada
1.5g de cloruro de sodio
5 g de bicarbonato de sodio
5 ml de detergente líquido
2. Cortar en pequeños cubitos la zona central de la muestra que va a proporcionar el ADN.
3. Con ayuda del procesador de alimentos, triturar la muestra con un poco de agua en un vaso de precipitado.
4. Mezclar en un vaso de precipitado 5 ml del triturado celular con 10 ml del buffer y agitar vigorosamente durante 5 minutos.
5. Separar los restos vegetales de mayor tamaño del caldo molecular haciéndolo pasar por un colador lo más fino posible.
6. Pipetear 5 ml del caldo molecular y transferirlos a un tubo de ensayo con ayuda de una pipeta añadir 10 ml de alcohol isoamílico previamente enfriado a 0°C. El alcohol se debe dejar escurrir lentamente por las paredes del tubo de ensayo.
7. Introducir la punta de una varilla estrecha hasta justo debajo de la separación entre el alcohol y el tampón. Mover la varilla hacia adelante y hacia atrás. Pasado un minuto sacar la varilla lentamente atravesando la capa de alcohol con lo cual el ADN quedara adherido a la varilla.

CUESTIONARIO

1. ¿Porque es importante realizar una buena trituración de la muestra?
2. Explique. ¿Cuál es la finalidad de emplear detergente líquido y al Cloruro de Sodio en la extracción del ADN?
3. ¿Cuál es la función del alcohol isoamílico?

BIBLIOGRAFIA SUGERIDA

Angulo, A.A., Galindo, A.R., Avendaño, R.C., & Pérez, C. (2012). Biología Celular. Culiacán, Sinaloa, México: Once Ríos.

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2010). Biología molecular de LA CÉLULA. Barcelona: OMEGA.

Donald Voet, Judith G. Voet, Charlotte W. Pratt. (2007). Fundamentos de Bioquímica La vida a nivel molecular. Buenos Aires: Médica Panamericana.