



Sistema Integrado de Gestión

GUIA PRÁCTICA N° 51


**RECONOCIMIENTO Y EXTRACCIÓN DE ADN
PROGRAMA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA**

Versión 1

Código: IV.4.1.19.03.56

Proceso: Investigación - IV

Abril de 2017

	GUIA PRÁCTICA N° 51 PROGRAMA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA	Código: IV.4.1.19.03.56
		Fecha: 17/04/2017
		Versión: 1
		Página 2 de 8

1. OBJETIVOS

1.1 General

- Comprender la relación existente entre los procesos químicos que suceden en la fase experimental con la conservación de la molécula de ADN.

1.2 Específicos

- Alcanzar a dimensionar los procedimientos para la extracción de ADN a partir de una muestra vegetal.
- Visualizar la importancia del estudio molecular aplicado al estudio bioquímico y metabólico de los alimentos.

2. ALCANCE


Se pretende que mediante esta práctica el estudiante pueda evidenciar cómo se efectúa el trabajo de laboratorio en biología molecular, el cual es la base del conocimiento científico en esta área. Lo anterior con miras hacia consolidar una mayor comprensión de los conceptos abordados en las clases teóricas.

3. DEFINICIONES

El estudiante debe estar familiarizado con la estructura y función del ADN; cómo la molécula alcanza su naturaleza tridimensional en doble hélice, dónde se encuentra dentro de la célula eucariótica, así como también sus procesos moleculares: Replicación, Transcripción y Traducción.

4. CONDICIONES GENERALES

Se debe asistir a la práctica con el diagrama de flujo, la bata de laboratorio blanca, guantes, gafas, zapatos cerrados, el trapo o la toalla para limpiar y secar, cinta de papel o cualquier otro elemento que le permita rotular sobre vidrio.

 <p>INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA ESCUELA NACIONAL del DEPORTE</p>	<p>GUIA PRÁCTICA N° 51 PROGRAMA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA</p>	Código: IV.4.1.19.03.56
		Fecha: 17/04/2017
		Versión: 1
		Página 3 de 8

5. DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

5.1 PROPÓSITO

Evidenciar de manera práctica la presencia del ADN como material que contiene la información genética de todos los seres vivos.

5.2 PROCESO DE LA PRÁCTICA

Antes de empezar la práctica el docente dará una explicación previa al desarrollo del laboratorio donde presentará los equipos, los reactivos, los materiales que se utilizarán durante la práctica, explicando qué cuidados se deben tener y las normas de seguridad para evitar cualquier accidente.


5.3 MATERIALES Y EQUIPOS

- Muestra vegetal (Cualquier fruta o verdura).
- Agua (destilada o mineral)
- Cloruro de sodio
- Bicarbonato sódico
- Dodecil sulfato de sodio al 10%
- Alcohol etílico 98% a 0°C
- Nevera
- Centrífuga
- Beaker
- Tubos de ensayo
- Varilla fina
- Solución ablandadora de carne o Cloroformo
- Mortero de cerámica

5.4 PRÁCTICA

EXTRACCIÓN DE ADN VEGETAL

La extracción de ADN requiere una serie de etapas básicas. En primer lugar tienen que romperse la pared celular y la membrana plasmática para poder acceder al núcleo de la célula. A continuación debe romperse también la membrana nuclear para dejar libre el ADN. Por último hay que proteger el ADN de enzimas que puedan degradarlo y para aislarlo hay que hacer que precipite en alcohol.


 <p>INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA ESCUELA NACIONAL del DEPORTE</p>	<p>GUIA PRÁCTICA N° 51 PROGRAMA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA</p>	Código: IV.4.1.19.03.56
		Fecha: 17/04/2017
		Versión: 1
		Página 4 de 8

FUNDAMENTO DEL PROCEDIMIENTO

La extracción de ADN de una muestra celular se basa en el hecho de que los iones salinos son atraídos hacia las cargas negativas del ADN, permitiendo su disolución y posterior extracción de la célula. Se empieza por lisar (romper) las células mediante un detergente (dodecil sulfato de sodio), vaciándose su contenido molecular en una disolución tampón en la que se disuelve el ADN. En ese momento, el tampón contiene ADN y todo un surtido de restos moleculares: ARN, carbohidratos, proteínas y otras sustancias en menor proporción. Las proteínas asociadas al ADN, de gran longitud, se habrán fraccionado en cadenas más pequeñas y separadas por la acción del dodecil sulfato de sodio. Sólo queda, por tanto, extraer el ADN de esa mezcla de tampón y detergente, para lo cual se utiliza el etanol.

REALIZACIÓN

1. Preparar el tampón con los siguientes ingredientes y mantener en la nevera o en un baño de hielo triturado:
 - 100 ml de agua, si es posible destilada
 - 1,5 g de Cloruro de Sodio.
 - 5 g de bicarbonato sódico.
2. Elegir la muestra que va a proporcionar el ADN (cebolla, ajo, tomates, banano etc.) y cortarla en cuadraditos.
3. Tomar unos 10g aproximadamente de la muestra seleccionada y triturar la muestra con ayuda de un mortero mientras macera adicione 5ml de solución de dodecil sulfato de sodio al 10%.
4. Pasar 5ml de la mezcla anterior a un tubo de ensayo y poner a calentar durante 10 minutos en baño de agua (baño de maría) a 65°C. (No debe hervir ni pasar los 65 °C)
5. Adicionar 10ml de solución tampón frío y agitar vigorosamente durante al menos 2 minutos.
6. Tomar 3ml de la mezcla anterior y ponerlos en un tubo de ensayo para centrifuga, centrifugar a 4000rpm durante 5 minutos.
7. Cuando la centrifuga se detenga totalmente retirar los tubos y con ayuda de una pipeta de Pasteur retira el sobrenadante y depositarlo en una probeta de 5 o 10ml.
8. Agregar 3 a 4 de cloroformo a la solución anterior. (en su defecto puede adicionar 1ml de solución ablandadora de carne al 15%).
9. Añadir con pipeta 1 ml de alcohol etílico enfriado a 0°C. Se debe dejar escurrir lentamente el alcohol por la cara interna del recipiente, teniendo éste inclinado. El alcohol quedará flotando sobre la solución.
10. Se introduce la punta de una varilla estrecha hasta justo debajo de la separación entre el alcohol y la solución. Remover la varilla hacia delante y

 <p>INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA ESCUELA NACIONAL del DEPORTE</p>	<p>GUIA PRÁCTICA N° 51 PROGRAMA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA</p>	Código: IV.4.1.19.03.56
		Fecha: 17/04/2017
		Versión: 1
		Página 5 de 8


hacia atrás y poco a poco se irán enrollando los fragmentos de mayor tamaño de ADN. Pasado un minuto retirar la varilla atravesando la capa de alcohol con lo cual el ADN quedará adherido a su extremo con el aspecto de un copo de algodón mojado.

6. DATOS

En su cuaderno de laboratorio registre todas las observaciones realizadas durante el proceso de la práctica.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Alberts, B et al. Biología molecular de la célula. Edición 5. Ediciones Omega S.A. Barcelona, 2010
2. Beas C, Ortuño D, Almendariz J. Biología molecular: fundamentos y aplicaciones. McGraw Hill. México DF. 2009.
3. Lewin B. Genes IX. Edición 9. McGraw Hill. México DF. 2008.
4. Klug WS, Cummings MR, Spencer CA. Conceptos de genética. Edición 8. Pearson Prentice Hall. Madrid. 2006.
5. Krebs, J et al. Lewin's Genes X. Edición 10. Oxford University Press. 2010
6. Lodish *et al.* Molecular Cell Biology. 5th edition. Whfreeman. New York. 2003.

 INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA ESCUELA NACIONAL del DEPORTE	GUIA PRÁCTICA N° 51 PROGRAMA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA	Código: IV.4.1.19.03.56
		Fecha: 17/04/2017
		Versión: 1
		Página 6 de 8

8. REPORTE DE PRÁCTICA

PRÁCTICA # ____ NOMBRE

PRESENTADO POR:	
1 <hr style="border: 0; border-top: 1px solid black; margin: 5px 0;"/>	2 <hr style="border: 0; border-top: 1px solid black; margin: 5px 0;"/>
3 <hr style="border: 0; border-top: 1px solid black; margin: 5px 0;"/>	4 <hr style="border: 0; border-top: 1px solid black; margin: 5px 0;"/>
5 <hr style="border: 0; border-top: 1px solid black; margin: 5px 0;"/>	6 <hr style="border: 0; border-top: 1px solid black; margin: 5px 0;"/>

El reporte de práctica se evaluara mediante la entrega de un informe escrito el cual debe cumplir con las siguientes condiciones:

Cada grupo de trabajo pasado 7 días de realizada la práctica de laboratorio deberá entregar un informe escrito de la misma, elaborado de acuerdo con las normas básicas para la escritura de artículos científicos. Los integrantes del informe deben ser los mismos que realizaron la práctica. No se califican informes con menos de tres integrantes por grupo.


Todo el manuscrito, incluso la página del título, el resumen, las referencias, los cuadros y las leyendas de figuras y cuadros, debe estar escrito a espacio 1.15, deje un solo espacio entre párrafo y párrafo; deje un solo espacio después del punto y seguido o aparte. Use la fuente Arial de tamaño 12 y justifique el texto.

Use letra bastardilla o cursiva para los términos científicos (por ejemplo: *Escherichia coli*), por favor, no los subraye. NO coloque el texto en doble columna, el informe debe estar en formato de editor de texto.

Adicionalmente su reporte debe contener los siguientes ítems:

I. TITULO, AUTORES e INSTITUCIÓN DE ORIGEN y FECHA DE RECEPCIÓN (en nuestro caso sería la fecha de entrega del informe)

II. PALABRAS CLAVE: Permiten la identificación rápida del contenido del trabajo en las bases de datos bibliográficos que se manejan a través de sistemas informáticos. Máximo: 5 palabras claves.

 <p>INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA ESCUELA NACIONAL del DEPORTE</p>	<p>GUIA PRÁCTICA N° 51 PROGRAMA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA</p>	Código: IV.4.1.19.03.56
		Fecha: 17/04/2017
		Versión: 1
		Página 7 de 8

III. RESUMEN: Hace una breve descripción del contenido (introducción, metodología, resultados y conclusión). Normalmente se elabora al término del artículo. Extensión no mayor a 250 palabras.

IV. INTRODUCCIÓN: Contiene una relación breve de los antecedentes del problema, plantea las hipótesis y finaliza describiendo los objetivos del trabajo.

V. RESULTADOS: Hace relación de las observaciones, datos y resultados obtenidos. En esta parte se incluyen tablas y figuras (fotografías, imágenes) en un orden lógico que permitan una clara presentación de los resultados. Enumere con números arábigos y referencie en el texto así (Figura 1.) (Tabla 1.). No repita en el texto datos de tablas o ilustraciones, resalte o resuma solo las observaciones más importantes.

Recuerde, las figuras siempre se nombran con su respectiva leyenda en la parte inferior y las tablas por el contrario en la parte superior.

VI. DISCUSIÓN: A menudo aquí se hace la interpretación de los resultados, se comparan estos con otros obtenidos previamente por otros autores que se encuentran disponibles en la red, se discute sobre el alcance y las limitaciones de los resultados obtenidos, se formulan nuevas hipótesis, se sugiere la realización de estudios posteriores y se plantean conclusiones.


VII. ANEXOS: En este punto se le dará la respuesta a las preguntas que tiene la guía de la práctica.

VIII. REFERENCIAS CITADAS: Aquí se relaciona la bibliografía citada en el texto del artículo. Numere las referencias consecutivamente según el orden en que se mencionan por primera vez en el texto. En este documento, las referencias se identificarán mediante números árabes super-indexados, por ejemplo: Gómez¹⁰.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

¿Qué ha ocurrido?... para discutir lo ocurrido en la práctica deben tener en cuenta el rol que cumplen durante el procedimiento:

1. El detergente
2. El calor
3. La solución ablandadora de carne o Cloroformo.
4. El alcohol.

 INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA ESCUELA NACIONAL del DEPORTE	GUIA PRÁCTICA N° 51 PROGRAMA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA	Código: IV.4.1.19.03.56
		Fecha: 17/04/2017
		Versión: 1
		Página 8 de 8

ANEXOS

1. Explique la importancia de las distintas fuentes de ADN en las plantas y compárelo con lo que sucede en células animales.
2. Explique brevemente cómo sería un protocolo de extracción para una muestra animal y qué diferencias habrían con respecto al realizado por ustedes. Recuerde basar sus ideas en la estructura y la composición bioquímica celular.
3. ¿Cuál es la importancia de comprender los procesos de laboratorio que tiene como finalidad conocer la estructura y función del ADN desde el punto de vista de su quehacer como Nutricionista?

6. REVISIÓN Y ACTUALIZACIÓN

Esta Guía será actualizada por el Docente encargado de la práctica en el laboratorio, revisado por la Dirección Técnica de Investigaciones y la Vicerrectoría Administrativa, esta última como Representante de la Dirección para el SIG, y aprobado por el Vicerrector Académico.

Aprobación del Documento				
	Nombre	Responsable	Firma	Fecha
Elaboró	Jonathan Steven Pelegrin	Docente biología molecular		03/04/2017
Revisó	Olga Cecilia Suárez	Director Técnico de Investigaciones		07/04/2017
	María Isabel Andrade	Representante de la Dirección del SIG		
Aprobó	Roger Micolta Truque	Vicerrector Académico		17/04/2017

Control de los Cambios			
Versión No.	Fecha de Aprobación	Descripción de los Cambios	Justificación del cambio