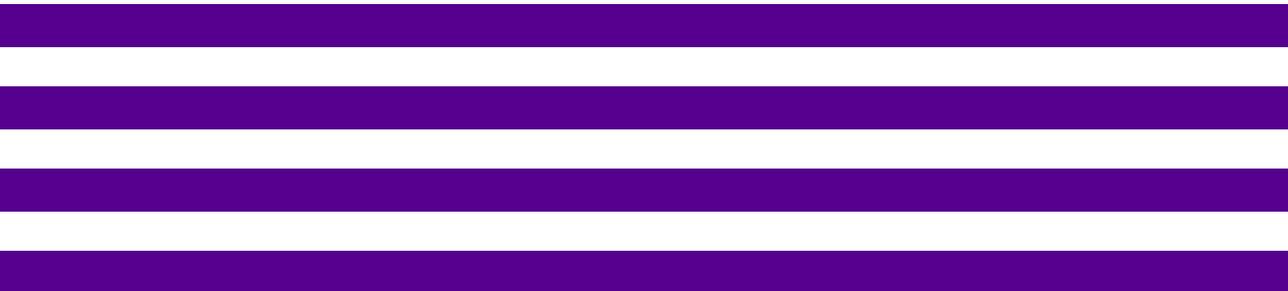


Guía de Laboratorio

Biología Celular

Mag. Sergio Huatuco Trinidad



Guía de Laboratorio de Biología Celular

Material publicado con fines de estudio.

Código: 24UC00004

Huancayo, 2023

De esta edición

© Universidad Continental, Oficina de Gestión Curricular Av. San Carlos 1795,
Huancayo-Perú

Teléfono: (51 64) 481-430 anexo 7361

Correo electrónico: recursosucvirtual@continental.edu.pe

<http://www.continental.edu.pe/>

Cuidado de edición Fondo Editorial

Diseño y diagramación Fondo Editorial

Todos los derechos reservados.

La Guía de Trabajo, recurso educativo editado por la Oficina de Gestión Curricular, puede ser impresa para fines de estudio.

Contenido

Presentación 5

Primera Unidad 7

La célula: características de las células procariotas y eucariotas

Semana 1: Sesión 1

Bioseguridad y reconocimiento de Material de Laboratorio 8

Semana 2: Sesión 2

Microscopía y células bacterianas 24

Semana 3: Sesión 3

Estructuras de Locomoción Celular: Pseudópodos, Cilios y Flagelos 30

Semana 4: Sesión 4

Observación del Núcleo Celular en Elementos Formes de la Sangre 34

Segunda Unidad 38

Componentes celulares: Funciones y características de los principales organelos de las células eucariotas

Semana 5: Sesión 5

Permeabilidad Selectiva de la Membrana Celular 39

Semana 6: Sesión 6

Movimiento a través de las membranas 40

Semana 7: Sesión 7

Estudio de Orgánulos Celulares: Mitocondrias y Cloroplastos 48

Semana 8:

EVALUACION PARCIAL 51

Tercera Unidad 52

Ciclo celular: mitosis y meiosis

Semana 9: Sesión 8

Extracción y análisis del ADN 53

Semana 10: Sesión 9

Mitosis 59

Semana 11: Sesión 10

Herencia de los caracteres faciales 63

Semana 12: Sesión 11

Herencia de Grupos sanguíneos 70

Cuarta Unidad 73

Biología y su uso en la medicina: métodos avanzados para el estudio celular

Semana 13: Sesión 12 74

Cariotipo Humano

Semana 14: Sesión 13

Exposición 1 , métodos moleculares aplicados al diagnóstico clínico: Maldi TOF, PCR (tipos). 76

Semana 15: Sesión 14

Exposición 2 , métodos moleculares aplicados al diagnóstico clínico: FISH, MICROARRAY 81

Semana 16:

EVALUACION FINAL 83

Referencias 84

Presentación

El contenido de esta guía está desarrollado para servir como apoyo al profesor y a los estudiantes que cursan el primer ciclo con la finalidad de cubrir las necesidades elementales.

El propósito de las prácticas de Laboratorio es familiarizar al estudiante con el método científico y proporcionarle un ambiente donde tenga la oportunidad de encontrarse con sustancias e instrumentos que motive a experimentar.

Por este motivo las prácticas de laboratorio se han organizado de acuerdo con las unidades de aprendizaje que contiene el plan de estudios de Biología Celular: La célula, sus componentes, función de sus componentes, la forma de división y métodos avanzados sobre su estudio.

Al finalizar la asignatura, el estudiante será capaz de identificarse con el laboratorio y la forma de comportarse en este nuevo ambiente, reconociendo nuevos equipos e instrumentos al desarrollar prácticas para la identificación de la célula, su forma de división y la forma en que la distribución de los genes afecta la herencia de individuos futuros.

Se recomienda al estudiante leer la guía o material asignado antes de la clase. Esto ayudará significativamente a su aprovechamiento.

Mag. Sergio Huatuco Trinidad

Primera **Unidad**

La célula: características de las células
procariotas y eucariotas

Semana 1: Sesión 1

BIOSEGURIDAD Y RECONOCIMIENTO DE MATERIAL DE LABORATORIO

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 240 minutos

Docente: Unidad: 1

Nombres y apellidos:

Instrucciones

Dar lectura de manera grupal la presente guía y discutir sobre el tema. Tome debida nota y establecer conclusiones.

I. Propósito

- Reconocer las terminologías usadas frecuentemente en las guías de Bioseguridad de los laboratorios.
- Establecer el tipo de laboratorio de Biología Celular y Molecular de la Facultad en relación al nivel de riesgo.
- Considerar las medidas de Bioseguridad en laboratorios de Biotecnología en donde se manipula ADN.
- Identificar las principales señales de Bioseguridad.

II. Fundamentos teóricos

La preocupación por eliminar los riesgos y proteger al personal docente, administrativo y estudiantes, ha llevado que las condiciones de trabajo recaen sobre todos y cada uno de los usuarios de los laboratorios. La bioseguridad es una doctrina de comportamiento encaminada a lograr actitudes y conductas que disminuyen el riesgo del personal en cuando a su salud, de adquirir infecciones o contaminación en el laboratorio. El conocimiento y la aplicación adecuada de estas normas como la utilización de mandil o guardapolvo, guantes, mascarillas, entre otros; así como la importancia de estas normas antes, durante y después de cada práctica es un deber de cada estudiante en el ambiente de laboratorio en donde se está desarrollando. Estas normas son la base de un buen control de calidad del producto o experimento que se esté llevando a cabo.

Conocer las diferentes soluciones como el hipoclorito de sodio, fenol al 5% o solución sulfocrómica, que se utilizan para mantener limpio y desinfectado nuestra mesa de trabajo y materiales, así como su preparación en las condiciones que se necesitan, deben realizarse en forma rutinaria por cada estudiante.

A. Vaso de Precipitación o beaker

Es un recipiente cilíndrico de vidrio fino que se utiliza en el laboratorio, sobre todo, para preparar o calentar sustancias y trasvasar líquidos. Suele llevar marcada una escala graduada en mililitros, que permite medir distintos volúmenes, aunque no con gran precisión. Las capacidades de los vasos de precipitados suelen variar entre los 25 y los 2 000 mililitros.

B. Matraz Aforado o fiola

Se le denomina también matraz volumétrico. Es un recipiente de vidrio con forma de pera y cuello estrecho y largo en el que aparece una marca o enrase que indica la capacidad

exacta del matraz a una cierta temperatura. Este instrumento de laboratorio se emplea, principalmente, para preparar soluciones de una determinada concentración. El rango de capacidad de los matraces aforados más utilizados va de 25 a 1 000 mililitros.

C. Probeta

Este cilindro de vidrio graduado, con una amplia base, se utiliza en los laboratorios para medir volúmenes de líquidos o simplemente contenerlos. Suele estar calibrada en mililitros.

Para realizar una buena lectura del volumen, hay que situar los ojos a la altura de la superficie libre del líquido, sin embargo, cuando se requiere una precisión mayor en la medida, se utilizan otros instrumentos como las pipetas.

D. Matraz de Erlenmeyer

Es un instrumento de laboratorio de vidrio de forma troncónica y cuello cilíndrico corto. Generalmente lleva una escala graduada en mililitros, que permite medir el volumen de un líquido. En microbiología, el matraz sirve para disolver y preparar agar para cultivos bacteriológicos y micóticos. Hay matraces Erlenmeyer de distintas capacidades que pueden variar de 50 a 2 000 mililitros y más.

E. Tubo de Ensayo

Es un tubo delgado de vidrio, cerrado por un extremo. Este material de laboratorio se utiliza para contener o calentar pequeñas cantidades de sustancia. En el calentamiento del tubo hay que tener presente una serie de normas de bioseguridad, como sujetar el tubo con unas pinzas aislantes, agitarlo continuamente y dirigir su boca hacia un lugar que no implique riesgo en caso de que se derrame su contenido. Hay tubos de ensayo de distintos tamaños, y para sostenerlos se utilizan las gradillas de madera, metal o plástico. En el procesamiento y extracción de ADN se utilizan los tubos Eppendorf.

F. Refrigerante

Este instrumento de laboratorio se utiliza en los procesos de destilación para condensar el vapor. Es de vidrio, de forma cilíndrica, con un tubo central por el que pasa el vapor, contenido en una cámara por la exterior por donde circula agua fría en contracorriente. Existen distintos tipos de refrigerantes, según la forma de su tubo interior. Así, el refrigerante de Liebig presenta un tubo recto y el refrigerante de serpentín en espiral.

G. Embudo de Decantación

También conocido como embudo de separación. Es un instrumento de vidrio, con una llave en su parte inferior, que se utiliza en el laboratorio en la separación de líquidos no miscibles, por diferencia de densidades. Una vez que se encuentran los líquidos en reposo, y aparece nítida la superficie de separación, se abre la llave, dando paso al más denso hasta cuando el tubo estrecho inferior de goteo se observa la superficie de separación procediéndose al cierre de la llave. En el embudo de decantación se pueden efectuar también extracciones.

H. Bureta

Este instrumento de laboratorio se utiliza en volumetría, un método químico que permite medir la cantidad de disolución necesaria para reaccionar exactamente con otra disolución a través de una punta capilar.

I. Pipeta y Micropipetas

Es un tubo de vidrio abierto por los dos extremos que se emplea para transvasar o medir pequeñas cantidades de líquido en el laboratorio. Los dos tipos de pipeta que más se utilizan son la graduada o de Mohr y la volumétrica o de vertido. La primera lleva una escala graduada; las más comunes permiten medir de 1 a 10 mililitros. En la pipeta de vertido aparece un único enrase, que corresponde con un determinado volumen. En medidas de menor volúmenes se utilizan las micropipetas con medidas micromilimétricas.

J. Placas Petri

Material de vidrio que permite sostener medio de cultivos microbianos como el agar con fines de aislamiento, identificación y conteo de colonias bacterianas o aplicación de discos de antibióticos para antibiogramas. Las placas petri también son usadas para contener tejidos o cualquier otra muestra biológica.

K. Embudo y papel de Filtro

Son los elementos de laboratorio básicos en el proceso de filtración, que consiste en separar un sólido de un líquido en el que se encuentra suspendido, a través de un material poroso. El papel de filtro, de pliegues o liso, retiene las partículas de sólido mientras permite el paso del líquido; se coloca sobre el embudo, generalmente de vidrio y cortado en bisel por su parte inferior.

L. Trípode

Son utensilios de hierro que presentan tres patas y se utilizan para sostener materiales que van a ser sometidos a calentamiento.

M. Rejilla de Asbesto

Es una tela de alambre de forma cuadrangular con la parte central recubierta de asbesto, con el objeto de lograr una mejor distribución del calor. Se utiliza para sostener utensilios que se van a someter a un calentamiento y con ayuda de este utensilio el calentamiento se hace uniforme.

N. Soporte Universal

Es un utensilio de hierro que permite sostener varios recipientes a través de anillos circulares del mismo material, adaptado para dicho soporte.

O. Mechero Bunsen

Es un utensilio metálico que permite calentar sustancias. Este mechero de gas que debe su nombre al químico alemán ROBERT W. BUNSEN puede proporcionar una llama caliente (de hasta 1 500 grados Celsius), constante y sin humo, por lo que se utiliza mucho en los laboratorios. Está conformado por un tubo vertical metálico, con una base, cerca de la cual tiene la entrada de gas, el tubo también presenta un orificio para la entrada de aire que se regula mediante un anillo que gira. Al encender el mechero hay que mantener la entrada del aire cerrada; después se va abriendo poco a poco. Para apagar el mechero se cierra el gas. Con ayuda del collarín se regula la entrada de aire. Para lograr calentamientos adecuados hay que regular la flama del mechero a modo tal que esta se observe bien oxigenada determinado por una flama azul.

P. Mortero

Hechos de diferentes materiales como porcelana, vidrio o ágata. Los morteros de vidrio y de porcelana se utilizan para triturar materiales de poca dureza y los de ágata para materiales que tienen mayor dureza.

Q. Equipos e instrumento de laboratorio

Autoclave, horno, estufa, baño maría, microscopios, estereoscopio, cámara de flujo laminar, termociclador, balanza analítica, centrífuga, ultracentrífuga, espectrofotómetro, microscopio electrónico.

TERMINOLOGÍAS BÁSICAS EN BIOSEGURIDAD

1. Acto inseguro

Es todo incumplimiento de normas y/o procedimientos establecidos que realizan los trabajadores y estudiantes y que trae como consecuencia mayor probabilidad de lesiones en las personas y contaminación al medio ambiente.

2. Agente infeccioso

Priones, viroides, virus, bacterias, hongos, rickettsias, protozoarios o helmintos capaces de producir infección.

3. Agente de riesgo

Elementos biológicos, físicos, químicos y mecánicos capaces de causar daños o enfermedad en el personal que tiene contacto con ellos.

4. Antisépticos

Son agentes que inhiben el crecimiento y desarrollo de los organismos pero no necesariamente los mata el mismo que puede ser usado sobre la piel y los tejidos vivos a diferencia de los desinfectantes que se utilizan sobre objetos inanimados. Aunque algunos antisépticos específicos pueden ser utilizados para ambos fines (alcohol 70-90%), su efectividad no es necesariamente la misma en cada caso: Un buen antiséptico puede no ser eficaz como desinfectante y viceversa.

5. Antiseptia

Es el mecanismo o proceso de aplicación del antiséptico y que difiere de la desinfección y esterilización, puesto que no destruye a todos los gérmenes patógenos ubicados sobre la superficie de los seres animados.

6. Inoculación

Mecanismo por el cual una persona se infecta con un germen que está situado en alguna parte de su cuerpo como consecuencia de una incorrecta manipulación.

7. Bioseguridad

Se refiere al conjunto de actitudes y procedimientos orientados a impartir la contaminación por agentes biológicos, físicos o químicos, tomando en cuenta las medidas preventivas destinadas a proteger la salud y la seguridad del personal que trabaja en el laboratorio.

8. Carcinógeno

Sustancia o agentes capaces de causar cáncer por ejemplo el bromuro de etidio para la visualización de la ampliación de ADN o el uso excesivo de xilol.

9. Comburente

Material que ayuda a la combustión, también se puede llamar oxidante.

10. Condición insegura

Es toda situación física que crea un riesgo y que en determinadas circunstancias puede ocasionar lesiones a los trabajadores, daño a la propiedad o al medio ambiente.

11. Contaminación

Es la presencia de un agente infeccioso en la superficie del cuerpo, vestidos, instrumentos, vendajes quirúrgicos u otros artículos inanimados o sustancias incluyendo el agua y los alimentos.

12. Contención

Describe métodos seguros para el manejo de muestras de agentes infecciosos en el laboratorio. En él intervienen las técnicas de procesamiento de dichas muestras con equipos de seguridad diseñados para la protección del personal y el diseño de la infraestructura.

a. Contención primaria

Es la protección del personal y del ambiente inmediato contra la exposición a agentes infecciosos.

Es provista por una buena técnica microbiológica y el uso apropiado del equipo de seguridad la aplicación de vacunas aumenta el nivel de protección personal.

b. Contención secundaria

Es la protección del ambiente externo contra la exposición de material infeccioso.

Se logra por una combinación de las características de la edificación y prácticas operacionales.

13. Descontaminación

Es la disminución de la carga microbiana de objetos contaminados.

14. Desechos contaminados

Son desperdicios potencialmente infecciosos contaminados con sangre, pus, orina, heces y otros fluidos corporales.

15. Desechos no contaminados

Son desperdicios que no presentan riesgo de infecciones para las personas que los manipulen.

16. Desinfección

Es un proceso físico o químico que compromete medidas intermedias entre limpieza y esterilización. Logra matar a los microorganismos, pero no esporas.

Se efectúa mediante el uso de agentes químicos en estado líquido o la pasteurización a 75°C.

17. Desinfectante

Sustancia o mezcla de sustancias químicas utilizadas para matar microorganismos, pero no necesariamente esporas. Los desinfectantes suelen aplicarse a superficies u objetos inanimados.

18. Enfermedad infecciosa

Se define como la proliferación de microorganismos dentro de los tejidos produciendo daño y dando lugar a una variedad de manifestaciones clínicas.

19. Enfermedad transmisible

Aquella causada por un agente infeccioso capaz de transmitirse de una persona o animal infectado o de un reservorio a un hospedador susceptible.

20. Esterilización

Es un proceso que tiene por objeto la destrucción de toda la forma de vida, incluyendo esporas de microorganismos. Se realiza preferentemente por medio del vapor saturado a presión (autoclave), por calor seco (horno), incineración (mechero de gas), y, en algunos casos, mediante el uso de agentes químicos determinados en forma de líquido o de gas. En los laboratorios de biología molecular se aplica la radiación por luz ultravioleta.

21. Individuo infectado

Persona que alberga un agente infeccioso y que puede o no presentar manifestaciones clínicas de la enfermedad.

22. Grupo de riesgo

Conjunto de microorganismos (virus, bacterias, hongos o protozoarios) capaces de causar algún tipo de alteración en otros seres vivos: según sea nulo, escaso o elevado potencial patogénico. De acuerdo al microorganismo que cultiva y manipula en los laboratorios, así como los mecanismos de transmisión y virulencia, pueden ser:

a. Grupo de riesgo N° 1

Un microorganismo que es improbable de causar enfermedad humana o animal de importancia veterinaria, por lo que el riesgo individual y población es escaso o nulo.

- *Bacillus subtilis*
- *Bacillus cereus*
- *Acantamoeba sp.*
- *Naegleria sp.*

b. Grupo de riesgo N° 2

Riesgo individual moderado, riesgo bajo en la comunidad. La exposición del agente patógeno tiene poca probabilidad de riesgo grave para el personal de laboratorio y la población, el ganado o el medio ambiente. Existe medidas preventivas y terapéuticas eficaces y el riesgo de propagación es ilimitada.

- *Entamoeba histolytica*
- *Aeromonas sp.*
- *Escherichia coli*
- *Bordetella sp.*
- *Leishmania sp.*
- *Bartonella bacilliformis*
- *Pseudomonas sp.*
- *Clostridium sp.*
- *Staphylococcus sp.*
- *Corynebacterium sp.*
- *Neisseria sp.*
- *Listeria monocytogenes*
- *Salmonella sp.*
- *Mycoplasma sp.*
- *Shigella sp.*
- *Treponema pallidum*
- *Streptococcus sp.*
- *Vibrio cholerae*
- *Campylobacter spp.*
- *Haemophilus spp.*
- *Leptospira spp.*
- *Blascomyces dermatitidis*

c. Grupo de Riesgo N° 3

Riesgo individual alto, riesgo bajo la comunidad. El agente suele provocar enfermedad humana o animal grave; pero que de ordinario no se propagan de un individuo a otro. Existe medidas preventivas y terapéuticas eficaces.

- *Brucella spp.*
- *Histoplasma capsulatum*
- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Paracoccidioides brasilienses*
- *Mycobacterium bovis*
- *Taenia solium*
- *Yersenia pestis*
- *Virus hepatitis B*

d. Grupo de Riesgo N° 4

Alto riesgo individual como comunitario. El agente patógeno que suelen provocar enfermedades graves en el ser humano o animales y se transmiten fácilmente de un individuo a otro, directa o indirectamente. Normalmente no existe medidas preventivas y terapéuticas eficaces.

- Virus Dengue
- Virus Ébola

- Virus VIH
- Virus Marbug
- Virus Influenza del tipo A
- Virus Machupo
- Bacillus anthrax
- Virus Viruela

23. Individuo inmune

Persona que posee anticuerpos protectores específicos o inmunidad celular como consecuencia de una infección inmunización anterior.

24. Individuo susceptible

Es cualquier persona cuya historia clínica y sintomatología indican que probablemente padece o está desarrollando alguna enfermedad transmisible.

25. Infección

Entrada de microorganismos dentro de los tejidos, sin producir necesariamente sintomatología o enfermedad.

26. Inmunidad

Es el estado de resistencia debido a la presencia de anticuerpos o células que poseen acción específica sobre microorganismos que producen enfermedad infecciosa.

27. Limpieza

Proceso físico por el cual se elimina de los objetos en uso, las materias orgánicas y otros elementos sucios, mediante el lavado con agua con o sin detergente: El propósito de la limpieza no es destruir o matar los microorganismos que contaminan los objetos, sino eliminarlos por arrastre.

28. Sustancias químicas de alto riesgo

Sustancias con características y reacciones especiales.

a. Sustancias tóxicas

Son agentes químicos que al ser expuesto al organismo por vía oral o por inhalación o entrar en contacto con la piel, producen daño al ser humano por acción de mecanismos físicos o químicos (fisiológicos o enzimáticos), o por una combinación de ambos.

b. Sustancias irritantes

Son agentes químicos que provocan alteración primaria sobre la piel, mucosas y ojos.

c. Sustancias corrosivas

Son agentes químicos que causan destrucción visible o alteraciones irreversibles en el lugar de contacto con los tejidos.

d. Sustancias Alergizantes

Son agentes químicos que, por contacto, inhalación o ingestión, provocan una reacción sensibilizante de tipo alérgico en un número significativo de personas.

e. Sustancias inflamables

Son sustancias químicas que producen gases o vapores y que, a una temperatura dada, alcanzan una concentración en aire que les permite inflamarse sobre el envase o recipiente.

f. Sustancias explosivas

Son sustancias que por una acción química exotérmica producen gases o vapores que involucren un rápido aumento de volumen y liberación de energía.

Como consecuencia se producen ondas expansivas de sonido y calor. Estas reacciones se desencadenan por percusión, inflamación o chispa.

g. Sustancias Mutagénicas y Carcinogénicas

Son sustancias que pueden producir cambios a nivel de la información genética celular que resultan en mutaciones (daño al feto en personal gestante) o cáncer.

h. Sustancias teratógenas

Sustancia que provocan alteración durante el desarrollo fetal o causa defectos de nacimiento.

TIPOS DE LABORATORIOS CON RELACIÓN AL NIVEL DE RIESGO

a. Nivel de Bioseguridad 1:

Laboratorio básico que permite el trabajo con agentes de bajo riesgo y no que está separado del edificio, el trabajo se realiza en mesas de laboratorio. Son ejemplos de los laboratorios que se encuentran en los centros de salud, hospitales de nivel local, laboratorios de diagnóstico, universidades y centros de enseñanza.

b. Nivel de Bioseguridad 2: Laboratorio básico que cuenta con cámaras de bioseguridad y otros dispositivos apropiados de protección personal o de contención física. Cuenta con áreas de tránsito limitado, se puede trabajar con agentes de riesgo de clase II y III. Es utilizado en Hospitales regionales y laboratorios de Salud pública.

c. Nivel de Bioseguridad 3: Laboratorio que cuenta con áreas de acceso restringido y barreras de contención para proteger al operador. Está destinado para trabajar con agentes de clase III. Son laboratorios de diagnóstico especializado.

d. Nivel de Bioseguridad 4: Laboratorio de contención máxima que cuenta con recintos separados o aislados, con sistemas de apoyo exclusivo, en cuyo diseño se incluyen barreras de contención que dan protección máxima al personal y/o comunidad. Sirve para trabajar con agentes de clase IV. Como los que cuenta los laboratorios del Instituto Nacional de Salud.

NORMAS GENERALES DE BIOSEGURIDAD

- El acceso al laboratorio estará limitado solo al personal autorizado.
- El personal que trabaje en el laboratorio debe cumplir a cabalidad las normas de bioseguridad.
- Toda área debe estar marcada con la respectiva señal de riesgo biológico y su nivel de contención.
- Al ingresar al laboratorio se debe tener en cuenta el debido porte del guardapolvo abotonado y limpio. Asimismo, una vez que ingrese se debe colocar los abrigos, libros y demás objetos, en sitios adecuados para evitar un posible accidente y nunca sobre los bancos o mesa de trabajo. Los laboratorios cuentan con casilleros para los estudiantes
- Las puertas y ventanas deben permanecer cerradas durante la sesión de laboratorio para evitar la contaminación por corrientes de aire. La extracción de ADN en el laboratorio de biología molecular se debe realizar obligatoriamente en la cámara de flujo laminar.
- Al inicio y término de una práctica se debe limpiar la superficie de trabajo con una solución desinfectante de preferencia fenol al 5% o cresol 3% dejándolo actuar durante 30 minutos.
- El laboratorio debe permanecer limpio y ordenado, durante el trabajo o el término del mismo.
- Lávese las manos con jabón carbónico a la hora de entrar y al término de cada sesión de trabajo, secándolos con toallas de papel.
- El personal con cabello largo debe recogerlo para trabajar dentro del laboratorio.

- Así como usar todos los implementos necesarios para la protección según el nivel de riesgo biológico.
- Evitar que las mangas, puños, pulseras, etc. estén cerca de las llamas cuando se usa el mechero.
- Durante la práctica no se deben guardar ni consumir alimentos y bebidas dentro del laboratorio. Evitar aplicarse cosméticos.
- Se debe colocar un calzado adecuado para las prácticas en el laboratorio, así como mantener las uñas cortas, limpias y sin esmalte. En el laboratorio de biología molecular es necesario el uso de botines, mascarillas, guantes y gorras.
- Hable en tono bajo y evite al máximo el movimiento dentro del laboratorio.
- Emplee los equipos según las instrucciones o los procedimientos operativos estandarizados, al igual que emplee los protocolos correspondientes a la práctica.
- El transporte de materiales o de muestras entre los laboratorios se realizará de manera tal que en caso de caídas no se produzca salpicadura.
- Todo personal debe poner especial cuidado en evitar el contacto con materiales potencialmente infecciosos sin la debida protección.
- Para la toma de muestra de sangre se deberá utilizar jeringas y agujas descartables. Asimismo, no pipetear con la boca soluciones potencialmente dañinas o contaminadas con agentes infecciosos. Los materiales de vidrios ya usados deben ser expuestas en solución sulfocrómica.
- Los derrames y accidentes deben ser informados inmediatamente al supervisor de laboratorio.
- Se usarán máscaras faciales si existe el riesgo de salpicaduras o aerosoles.
- Apagar los instrumentos eléctricos antes de manipular las conexiones.

Bioseguridad y tecnología del ADN recombinante

La tecnología del ADN recombinante entraña la combinación de información genética procedente de distintas fuentes para crear organismos genéticamente modificados (OGM) que pueden no haber existido antes en la naturaleza. En un principio, los especialistas en biología molecular expresaron cierta preocupación por la posibilidad de que esos organismos tuvieran propiedades impredecibles y perjudiciales y pudieran representar un riesgo biológico en caso de que salieran de los laboratorios. Esa preocupación fue el objeto de una conferencia científica celebrada en Asilomar (California, EE.UU.) en 1975, en la que se debatieron cuestiones de seguridad y se propusieron las primeras directrices en materia de tecnología del ADN recombinante. La experiencia obtenida a lo largo de los más de 25 años de investigación que siguieron ha demostrado que la ingeniería genética puede desarrollarse en condiciones de seguridad cuando se realizan las debidas evaluaciones de riesgos y se adoptan las medidas de seguridad apropiadas.

La tecnología del ADN recombinante, también conocida como ingeniería genética, se utilizó por primera vez para donar fragmentos de ADN en hospedadores bacterianos a fin de sobre expresar productos génicos concretos destinados al estudio. Las moléculas de ADN recombinante también se han utilizado para crear organismos genéticamente modificados, como animales transgénicos o con genes inactivados (knock-out), así como plantas transgénicas.

Esta tecnología ya ha tenido un enorme impacto en la biología y la medicina, y probablemente tenga una influencia aún mayor en el futuro, ahora que se ha determinado la secuencia completa de nucleótidos del genoma humano. Gracias a la ingeniería genética

podrán estudiarse decenas de miles de genes cuya función aún se desconoce. La terapia génica puede llegar a convertirse en el tratamiento habitual de ciertas enfermedades, y probablemente se obtengan nuevos vectores para la transferencia de genes mediante técnicas de ingeniería genética. Además, las plantas transgénicas producidas mediante esta tecnología pueden desempeñar un papel cada vez más importante en la agricultura moderna.

Los experimentos que supongan la creación o el uso de OGM deben realizarse después de efectuar una evaluación del riesgo biológico. Las propiedades patógenas y cualquier peligro potencial asociado a esos organismos pueden ser nuevos y no estar bien caracterizados. Hay que evaluar las propiedades del organismo donante, la naturaleza de las secuencias de ADN que van a transferirse, las propiedades del organismo receptor y las propiedades del entorno. Esos factores ayudarán a determinar el nivel de bioseguridad que se necesita para manipular sin riesgo el OGM resultante e identificar los sistemas de contención biológica y física que habrá que emplear.

a. Vectores víricos para la transferencia de genes

Vectores víricos, por ejemplo, los adenovirus, se utilizan para transferir genes a otras células. Esos vectores carecen de ciertos genes necesarios para la replicación vírica y son propagados en líneas celulares que complementan el defecto.

Las poblaciones de esos vectores pueden contaminarse con virus que tienen intacta la capacidad de replicación, generados por sucesos poco frecuentes de recombinación espontánea en las líneas celulares de propagación, o procedentes de una purificación insuficiente. Esos vectores deben manipularse al mismo nivel de bioseguridad que el adenovirus del que proceden.

b. Animales transgénicos y con genes inactivados (knock-out)

Los animales que llevan información genética extraña (animales transgénicos) deben manipularse en niveles apropiados para las características de los productos de los genes extraños. Los animales en los que se han suprimido de forma selectiva ciertos genes (knock-out) no suelen entrañar riesgos biológicos particulares.

Cabe citar como ejemplos de animales transgénicos los animales que expresan receptores de virus normalmente incapaces de infectar a esa especie. Si esos animales salieran del laboratorio y transmitieran el transgén a la población animal salvaje, en teoría podría generarse un reservorio animal de esos virus en particular.

Esta posibilidad se ha examinado en el caso de los poliovirus y es particularmente pertinente en el contexto de la erradicación de la poliomielitis. Los ratones transgénicos, generados en distintos laboratorios, que expresaban el receptor de poliovirus humanos eran susceptibles a la infección por poliovirus por varias vías de inoculación, y la enfermedad resultante era análoga a la poliomielitis humana desde los puntos de vista histopatológico y clínico. Sin embargo, el modelo murino difiere del ser humano en que la replicación de los poliovirus administrados por vía oral en el tubo digestivo es poco eficiente o no se produce. Por consiguiente, es muy poco probable que, de escaparse esos ratones transgénicos de un laboratorio, se generase un nuevo reservorio animal de poliovirus. A pesar de todo, este ejemplo indica que en cada nueva línea de animales transgénicos es preciso efectuar estudios detallados para determinar las vías por las que pueden infectarse los animales, el tamaño del inóculo necesario para que se produzca una infección y el grado de excreción de virus por parte de los animales infectados. Además, deben adoptarse todas las medidas posibles para garantizar una contención estricta de los ratones transgénicos receptores.

c. Plantas transgénicas

Las plantas transgénicas que expresan genes que confieren tolerancia a los herbicidas o resistencia a los insectos son actualmente objeto de una controversia considerable en muchos lugares del mundo. El debate gira en torno a la seguridad de esas plantas cuando se utilizan como alimentos, así como a las consecuencias ecológicas a largo plazo de su cultivo.

Las plantas transgénicas que expresan genes de origen animal o humano se utilizan para elaborar productos medicinales y nutricionales. Una evaluación del riesgo determinará el nivel de bioseguridad más apropiado para la producción de esas plantas.

(Título V tomado del: "Manual de Bioseguridad en el laboratorio" OMS. Ginebra 2005)

PRINCIPALES SEÑALES DE BIOSEGURIDAD

A continuación, señalamos tres símbolos de bioseguridad propuestos por el Instituto Nacional de Salud.



Nota: del Instituto Nacional de Salud (2018)

III. Equipos / Materiales

Tabla 1

Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio	binocular	4
2	Baño María	mediano	1
3	Espectrofotómetro	Con luz uv	1
4	Estereoscopio	Mediano aumento	1

3.1 Equipos

Tabla 2

Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Tubos de ensayos	13X100, 15X150	1
2	Probeta	50 ml	1
3	Beaker	50 ml	1
4	Mechero Bunsen		1
5	Tripode y Rejilla	Asbesto	1
6	Gradilla		1
7	Pinza	Madera	1
8	Balón de vidrio	100 ml	1
9	Matraz Erlenmeyer	100 ml	1
10	Fiola	100 ml	1
11	Láminas y laminillas	Sin uso	1
12	Pipeta	1, 5 y 10 ml	1c/u
13	Micropipeta con Tips	10, 50 y 100 ul	1c/u
14	Placas petri	Vidrio	1
14	Embudo	Vidrio	1

15	Papel filtro	Cualitativo	1
15	Varilla	Vidrio	1
16	Mortero	Porcelana	1
17	Pipeta Pasteur	Vidrio y Plástico	1

IV. Indicaciones y procedimientos

Se constituirán los alumnos en grupo de 4 por mesa.

Se nombrará un delegado por mesa de trabajo

Primero: Se asignará un tema de Bioseguridad por mesa de trabajo conforme al marco teórico de la presente guía el cual deberá ser discutido. Podrán usar información complementaria de fuentes confiables. Ver MARCO TEÓRICO.

Segundo: Los delegados de mesa presentarán un resumen, así como las conclusiones y sugerencias sobre el tema discutido y analizado en sus respectivos grupos. se discutirán preguntas sobre el tema.

Tercero: Se verificará si el laboratorio asignado a la práctica del curso de Biología Celular y Molecular cumple con las normas y señalización aprobadas conforme a los parámetros establecidos a nivel internacional.

V. Resultados

.....

.....

.....

.....

VI. Conclusiones

.....

.....

.....

.....

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

Semana 2: Sesión 2

MANEJO DEL MICROSCOPIO Y OBSERVACIÓN DE CÉLULAS BACTERIANAS

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 240 minutos

Docente: Unidad: 1

Nombres y apellidos:

Instrucciones

Leer con detenimiento la presente guía de práctica considerando el buen uso del microscopio a fin de evitar la pérdida o ruptura de alguna pieza de dicho instrumento de laboratorio. Así mismo se debe tomar en cuenta que se manipulará cultivos bacterianos, por tanto, las medidas de bioseguridad aplicadas para este fin, evitará la contaminación del área de trabajo y riesgo de infección.

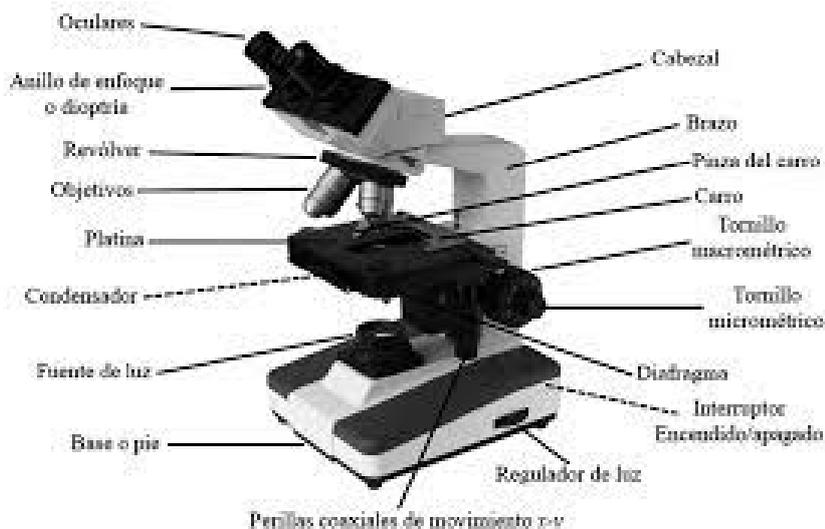
I. Propósito

- Identificar cada una de las partes y sistemas que conforman la estructura del microscopio óptico.
- Desarrollar habilidades en el manejo adecuado del microscopio óptico.
- Reconocer los debidos cuidados en el uso, limpieza y transporte del microscopio óptico.
- Emplear adecuadamente los procedimientos de coloración microbiológica como la tinción Gram para la observación en el microscopio óptico de células procariotas.

II. Fundamentos teóricos

El microscopio (de *mikroz*, *micrós* = pequeño y *okopew*, *scopéo* = observar) es un instrumento que permite observar objetos que son demasiado pequeños para ser vistos a simple vista. El tipo más común y el primero que se inventó es el microscopio óptico. Se trata de un instrumento óptico que contiene una o varias lentes que permiten obtener una imagen aumentada del objeto y que funciona por refracción. La ciencia que investiga los objetos pequeños utilizando este instrumento se llama microscopía.

El conocimiento de las estructuras del ser vivo está basado casi totalmente en el estudio con el microscopio. El microscopio óptico es un instrumento que permite la observación de objetos y detalles de estructuras tan pequeñas que no podrían ser observadas a simple vista. Con él, nuestro grado de visibilidad se amplía en cientos o miles de veces, gracias a un conjunto de lentes, dispuestos convenientemente. Las principales dificultades en la observación y estudio de estructuras biológicas son su reducido tamaño y su transparencia a la luz visible. Dado que el microscopio permite superar estas dos dificultades, su uso y el conocimiento de los principios y técnicas en microscopía, resultan fundamentales para el desarrollo de la investigación en ciencias biológicas.



Nota : tomado de www.dspace.tdea.edu.co (2020)

SISTEMA MECÁNICO: Comprende los siguientes dispositivos:

- **Pie:** Base que da soporte y estabilidad al microscopio.
- **Columna:** Estructura que une el pie con la platina y el tubo. Sostiene además el condensador y el diafragma.
- **Platina:** Superficie plana para sostener el portaobjetos y el cubre-objetos que contienen a las preparaciones.
- **Tubo:** Proporciona soporte a los lentes oculares y objetivos.
- **Tornillo macrométrico:** Asociada a dos tornillos, permite el movimiento vertical del tubo o de la platina para obtener la distancia a la cual el objeto puede ser observado nítidamente; es decir, el enfoque preciso para el observador.
- **Tornillo micrométrico:** Permite movimientos muy cortos en un ajuste fino del enfoque para lograr una observación precisa.
- **Revólver.** Sistema giratorio relacionado con el tubo, que porta los lentes objetivos para diversos aumentos, pudiendo utilizarlos alternativamente.
- **Pinzas.** Par de láminas rectangulares, situadas sobre la platina, para mantener al porta-objetos.

SISTEMA ÓPTICO: Comprende los lentes oculares y los lentes objetivos.

- **Oculares:** Lentes dispuestos en la parte superior del tubo cercano al ojo del observador. Su aumento puede ser de 6X, 10X y 15X. Siendo el más común 10X.
- **Objetivos:** Son lentes de diferentes aumentos situados en el otro extremo del tubo, en el revólver. El de menor aumento es más corto (3.2X, 4X, 5X y 10X) y el de mayor aumento es más largo (40X y 44X). Puede existir además un objetivo de inmersión de 100 a 150 aumentos, es decir de 100X a 150X.

SISTEMA DE ILUMINACIÓN:

- **Diafragma:** Abertura que regula la cantidad de luz que ingresa hacia la preparación.
- **Condensador:** Lente que concentra el haz luminoso hacia la preparación.
- **Espejo o luz incorporada:** Proporciona la luz que llega hasta el objeto a estudiar y el sistema óptico del microscopio. Existe un espejo plano por un lado y cóncavo por el otro, para ser usados cuando se disponga de abundante o escasa luz, respectivamente. La luz incorporada corresponde a un foco de luz eléctrica adaptado en el lugar que ocupa el espejo.

a) Grado de Aumento:

Es la magnificación total que sufre la imagen del objeto debido al efecto de los lentes oculares y objetivos. Se obtiene multiplicando el número de veces que aumenta el lente ocular por el número de veces que aumenta el lente objetivo.

Si el objetivo aumenta la imagen de un objeto 40 veces, esta al pasar por la lente ocular será nuevamente aumentada.

- Si el ocular aumenta 10 veces, la magnificación total en este caso será: $10X \times 40X = 400X$.
- Este resultado permite saber cuántas veces más grandes estamos viendo la imagen de un objeto.

b) Poder de Resolución:

Es la posibilidad de distinguir separados dos puntos muy cercanos entre sí. Cuanto mayor sea el poder de resolución, menor será la distancia entre dos puntos a la cual pueden distinguirse como tales. La distancia límite en la cual dos puntos pueden ser todavía distinguibles se denomina Límite de Resolución. El poder de resolución de un microscopio compuesto depende de la longitud de onda de la fuente luminosa y de la apertura numérica (propiedad óptica de la lente). Puede ser calculado mediante la siguiente fórmula:

$$P.R. = \frac{\text{LAMBDA}}{2 \text{ A.N.}}$$

Donde:
LAMBDA = Longitud de onda de la fuente luminosa
A.N. = Apertura numérica de la lente.

Existe una correspondencia entre el aumento de un objeto y su apertura numérica, de tal modo que las lentes con mayores aumentos generalmente tendrán mayores aperturas numéricas. El poder de resolución es quizá la característica más importante de un buen microscopio ya que de nada sirve una imagen muy grande del objeto, si ésta se ve borrosa y no puede distinguirse en sus detalles.

c) Distancia de Trabajo:

- Es la distancia que existe entre el objeto en observación y el lente objetivo.
- Esta distancia variará según el aumento del lente objetivo con la cual se trabaje. Es inversamente proporcional al grado de aumento; es decir, cuanto mayor sea el aumento del lente objetivo menor será la distancia de trabajo.
- Cuando se trabaje con un lente de inmersión la distancia de trabajo será mínima. En estos casos es necesario usar aceite de inmersión entre el lente objetivo y la preparación debido a que el índice de refracción para este tipo de lente es la del aceite y no la del aire. Esto permite obtener una imagen de gran tamaño y al mismo tiempo de gran nitidez.

A continuación, explicamos cual es el manejo adecuado del microscopio.

- Limpiar el espejo, condensador y los lentes del microscopio.
- Eliminar el polvo mediante un soplete de aire o pincel fino.
- Frotar sin presionar, con papel de lente, usando este solo una vez.
- Comprobar si el lente objetivo de menor aumento está a continuación del tubo; si no es así, debe colocarse en dicha posición haciendo girar el revólver hasta alcanzar un "tope" que lo indique.
- Abrir completamente el diafragma y observando a través del ocular, mover el espejo orientándolo de modo que la luz reflejada se observe en un círculo uniformemente iluminado. Este constituye el "campo óptico". Una vez obtenida la iluminación máxima, NO SE DEBE CAMBIAR LA POSICION DEL MICROSCOPIO. Con luz incorporada no hay espejo.

- Ubicar y sujetar el porta-objetos en la platina, procurando que la preparación se halle en el centro de la abertura circular.
- Mover el tornillo macrométrico para acercar el lente objetivo de menor
- Observando por el lente ocular, mover nuevamente el tornillo macrométrico en el sentido inverso hasta que aparezca la imagen.
- Una vez enfocada la imagen girar el tornillo hasta que sea nítida. Nunca se debe usar el tornillo micrométrico para grandes desplazamientos, para ello está el tornillo macrométrico.
- Cuando los tornillos macro y micrométrico se encuentren incorporados en un solo dispositivo, el ajuste fino se hace solo después de haber realizado el avance rápido de acercamiento a la preparación.
- Antes de pasar al siguiente aumento verificar que la imagen a observar se encuentre en el centro del campo, hacer girar el revólver cambiando el lente objetivo hasta llegar al "tope" y accionar solamente el tornillo micrométrico hasta obtener la nueva imagen.
- Para observar una muestra con el objetivo de inmersión, se coloca una gota de aceite de cedro encima de la lámina de la preparación antes de girar el revólver. Esto permite que la imagen se vea con nitidez para realizar la observación ya que este tipo de lentes requiere que el índice de refracción sea similar al del vidrio.
- Terminada la observación, girar el revólver para colocar el objetivo de menor aumento en la primera posición de trabajo.
- Retirar la preparación y dejar limpio el microscopio, secando la platina con cuidado.
- Si usó el objetivo de inmersión, debe limpiarse inmediatamente después de su uso con ayuda del papel de lente. Quitar el grueso del aceite con una hoja, luego limpiar con una segunda impregnada en xylol o de preferencia alcohol isopropílico. Finalmente, con una tercera, secar el lente. No usar cantidades excesivas de solvente pues pueden disolver el cemento de los componentes de los lentes.
- Mantener cubierto o guardado el microscopio cuando no esté en uso.
- En sitios con excesiva humedad ambiental deberá guardarse el microscopio en una campana de vidrio con un desecante como carbonato de calcio.

TINCIÓN EN PROCARIONTES

El reino mónera agrupa a los organismos conformados por células procariotas, es decir bacterias, mycoplasmas, rickettsias, clamideas y las cianobacterias conocidas como algas verde-azuladas o cianofitas.

Las cianobacterias a diferencia de las bacterias patógenas, son microorganismos autotróficos que fijan el nitrógeno ambiental y realizan fotosíntesis. Su capacidad de formar grandes colonias nos permite identificarlo en el ambiente como el *Nostoc sp* que se observa en la práctica sin necesidad de ser sometido a la coloración Gram.

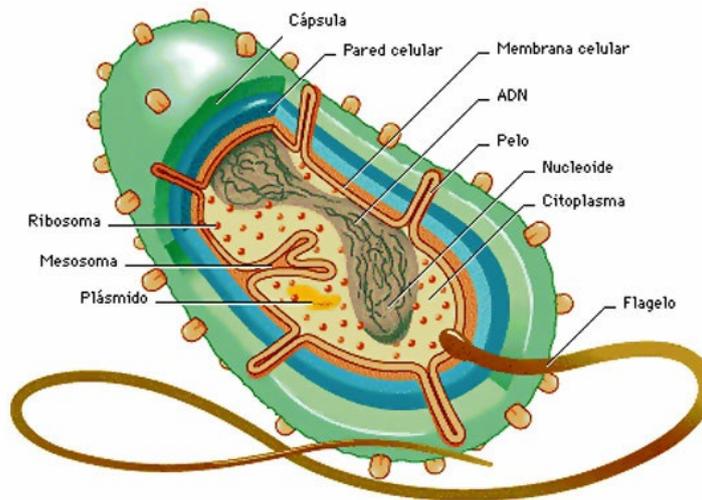
Las células bacterianas son muy pequeñas, entre 1 y 10 micrómetros (mm) de longitud, y solo pueden observarse con ayuda de un microscopio.

Las bacterias son organismos procariotas, que carecen de núcleo verdadero, característica que las diferencia de las células vegetales y animales. El núcleo de las plantas y de los animales contiene el material genético en forma de ácido desoxirribonucleico (ADN). El material genético de la célula bacteriana está formado también por ADN (generalmente circular) pero se encuentra en una región densa que no está separada del resto del citoplasma por ninguna membrana. Muchas bacterias poseen también pequeñas moléculas de ADN circulares llamadas plásmidos, que llevan información genética, pero, la mayoría de las veces, no resultan esenciales en la reproducción.

TINCIÓN GRAM

Los fundamentos de la tinción Gram se basan en las diferencias entre las paredes celulares de las bacterias Gram positivas y Gram negativas.

La pared celular de las bacterias Gram positivas posee una gruesa capa de peptidoglucano, además de dos clases de ácidos teicoicos: Anclado en la cara interna de la pared celular y unido a la membrana plasmática, se encuentra el ácido lipoteicoico, y más en la superficie, el ácido teicoico que está anclado solamente en el peptidoglucano (también conocido como mureína).



Nota: tomado <https://www.biografiasyvidas.com/tema/bacterias.htm> (2021)

Por el contrario, la capa de peptidoglucano de las Gram negativas es delgada, y se encuentra unida a una segunda membrana plasmática exterior (de composición distinta a la interna) por medio de lipoproteínas. Tiene una capa delgada de peptidoglucano unida a una membrana exterior por lipoproteínas. La membrana exterior está hecha de proteína, fosfolípido y lipopolisacárido.

Por lo tanto, ambos tipos de bacterias se tiñen diferencialmente debido a las diferencias constitutivas de su pared. La clave es el peptidoglucano, ya que es el material que confiere su rigidez a la pared celular bacteriana, y las Gram positivas lo poseen en mucha mayor proporción que las Gram negativas.

III. Equipos / Materiales

Tabla 1

Materiales y reactivos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Lámina portaobjeto	vidrio	10
2	Lámina cubre objeto	vidrio	10

3	Gotero	plástico	5
4	Asa de Kohlle o de siembra	metal	4
5	Mechero de Bunsen	O de alcohol	4
6	Soporte para láminas	De vidrio	2
7	Alcohol metílico		100 ml
8	Safranina (Fucsina)		100 ml
9	Azul de metileno		100 ml
10	Lugol		100 ml
11	Violeta genciana		100 ml

3.1 Equipos

Tabla 2

Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio	binocular	10

MUESTRA BIOLÓGICA: Muestras de bacterias cuyas colonias han sido cultivadas en agar, las cianofitas pueden adquirirse con el nombre vulgar de 'cushuro'.

IV. Indicaciones y procedimientos

Coloca el microscopio sobre tu mesa de acuerdo a las instrucciones del docente e identifica cada uno de sus partes.

Explicar cuáles son las características de la visión con el microscopio:

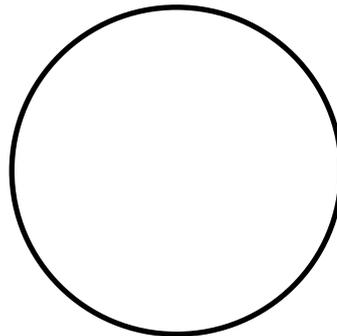
TINCIÓN SIMPLE:

- 1º Colocar una gota de muestra en un portaobjeto.
- 2º Dejar secar la preparación y fijarla a la llama del mechero sin que se efectúe un calentamiento excesivo.
- 3º Con el gotero, cubrir con fucsina.
- 4º observar al microscopio (objetivo de inmersión).

Grafica los procedimientos y la respectiva observación en el microscopio.

Muestra: _____

Aumento: _____



TINCIÓN GRAM: Para observación de bacterias.

A. Fijar un frotis:

- 1º En el mechero hacer flamear el asa de Kohlle.
- 2º Tomar el asa (previamente flameada) y con esta tomar un poco de muestra.
- 3º Una vez obtenida una pequeña cantidad de la muestra (con el asa), hacer que esta tenga contacto con una lámina portaobjetos, la cual servirá para depositar la muestra contenida en el asa.
- 4º Con el asa (conteniendo la muestra) sobre la lámina portaobjetos, proceder a realizar la extensión de la muestra en el portaobjetos mediante movimientos giratorios (dar vueltas con el asa) sobre la lámina, de tal forma que, al terminar la extensión, tengamos como productos una espiral en la parte media de la lámina.
- 5º Esperar que seque al aire libre o ayudarse con la llama del mechero para fijar la muestra, teniendo en cuenta que el calor no debe ser directo (solo se pasa por la llama), puesto que el calor excesivo puede cambiar la morfología celular de las bacterias a observar. El calor deseable es aquel en el que el portaobjetos sea apenas demasiado caliente para ser colocado sobre el dorso de la mano.

B. Tinción:

Adicionar violeta cristal o violeta genciana, utilizando la cantidad suficiente de dicho colorante sobre la muestra, como para lograr cubrirla por completo. Se deja actuar al colorante por 2 minutos.

C. Enjuague:

Al transcurrir el minuto, se debe enjuagar la lámina conteniendo la muestra con agua corriente. Para realizar el lavado, se debe tener en cuenta que el chorro de agua no debe caer directamente sobre la muestra, esta debe caer sobre la parte superior de la lámina que no contiene muestra. El chorro debe ser un chorro delgado, aproximadamente de medio a un centímetro de espesor. También el enjuague se debe realizar poniendo la lámina en posición inclinada hacia abajo.

A. Mordiente:

Una vez enjuagado el portaobjetos, se aplica como mordiente yodo o lugol durante 2 minutos más. El mordiente es cualquier sustancia que forme compuestos insolubles con colorantes y determine su fijación a las bacterias.

E. Decoloración:

Pasado el minuto de haber actuado el mordiente, el frotis se decolora con etanol al 75% o etanol al 95% o acetona o alcohol – acetona, hasta que ya no escurra más líquido azul. Para esto se utiliza el gotero del frasco del decolorante. Se van añadiendo cantidades suficientes del decolorante, hasta lograr que este salga totalmente transparente, es decir, hasta que ya no escurra más líquido azul.

F. Lavado y secado:

Lavar con agua para quitar los residuos de decolorante y esperar que seque la lámina al aire libre o con la ayuda de la llama de un mechero de la forma anteriormente descrita.

G. Tinción de contraste:

Una vez que la lámina ya secó, procedemos a teñir nuevamente, pero esta vez se va a utilizar un colorante de contraste como por ejemplo la safranina, dejar actuar durante 2 minutos.

H. Nuevo enjuague:

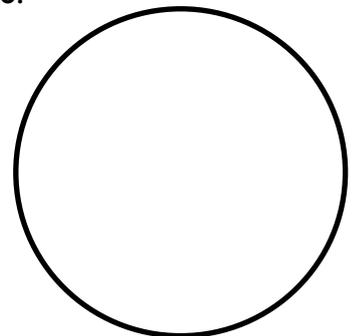
Pasado el minuto correspondiente, se procede a enjuagar la lámina con agua, se escurre el agua sobrante y se seca en la forma anteriormente descrita.

De esta manera, ya tendremos listo el frotis para su respectiva observación microscópica.

Grafica los procedimientos y la respectiva observación en el microscopio.

Muestra: _____

Aumento: _____



Indica cuáles son bacterias gram positivas y cuales son gram negativas

V. Resultados

.....
.....
.....
.....

VI. Conclusiones

.....
.....

.....
.....

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....
.....
.....
.....

Semana 3: Sesión 3

ESTRUCTURA DE LOCOMOCIÓN CELULAR: PSEUDOPODOS, CILIOS Y FLAGELOS

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 240 minutos

Docente: Unidad: 1

Nombres y apellidos:

Instrucciones

Considerar el cultivo de protozoarios, conforme lo indica la presente guía de práctica, con una semana de anticipación.

I. Propósito

Observar las estructuras de locomoción que presentan las células de los protozoarios de vida libre. Diferenciar estructuras de locomoción como flagelos, cilios y pseudópodos. Observar la presencia de cilios en células epiteliales humanas.

II. Fundamentos teóricos

Las células han desarrollado diversas estructuras de locomoción, no solo para su desplazamiento como ocurre en organismos unicelulares sino también para el transporte y defensa.

En protozoarios unicelulares, encontramos cilios, flagelos y pseudópodos cuya estructura y fundamento bioquímico es estudiado a nivel molecular. En el caso de los cilios, el aparato ciliar está conformado por la estructura microtubular con un patrón proteico de 9 + 2, también se presentan en los flagelos, y en el cuerpo basal o cinetosoma de la matriz citoplasmática cuya estructura de 9 (3) o nueve triplete de microtúbulos se asemeja a los centriolos.

Desde el punto de vista médico, se presenta el **síndrome del cilio inmóvil** que genera ciertas enfermedades como la bronquiectasia y sinusitis en las vías respiratorias. La inmovilidad puede presentarse en los flagelos de los espermatozoides provocando infertilidad en los varones que lo padecen. Los cilios forman parte de ciertos receptores sensoriales como los fotorreceptores de conos y bastones en la retina, y epitelio olfatorio; y pueden ser inmóviles por ausencia de los microtúbulos centrales.

Los pseudópodos no solo son prolongaciones de membrana para el desplazamiento celular, sino también un mecanismo importante para la incorporación de partículas de nutrientes durante la fagocitosis, mecanismo necesario para la inmunidad natural celular del sistema de defensa en organismos superiores.

III. Equipos / Materiales

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio óptico	Fuente de luz LED	3

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Placas Petri	vidrio	3
2	Laminas portaobjetos	Sin uso	6
3	Laminas cubreobjetos	Sin uso	6
4	Pipetas Pasteur	Vidrio con chupón	3
5	Lamina histológica de epitelio	Corte histológico de mucosa traqueal, oviducto o trompa de Falopio	2

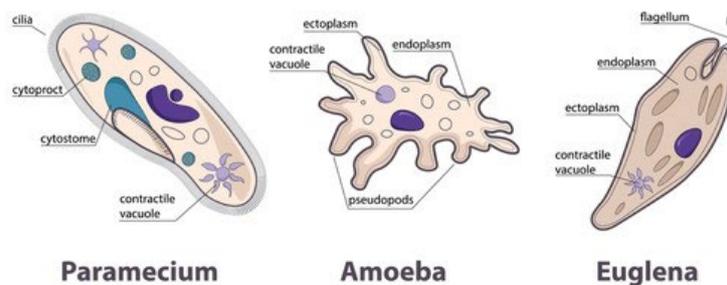
3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Lugol	4% en frasco gotero	50 ml
2	Verde de metilo	En frasco gotero	50 ml

IV. Indicaciones y procedimientos

a. Cultivo de Protozoarios (ojo: realizar con una semana de anticipación)

- En un frasco mediano de boca ancha, con agua estancada, agregar: arroz molido, zanahoria y lechuga picada. Así mismo incorporar una cucharada de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.
- Mantener abierto al aire libre una semana, en un lugar donde no se exponga a luz directa.



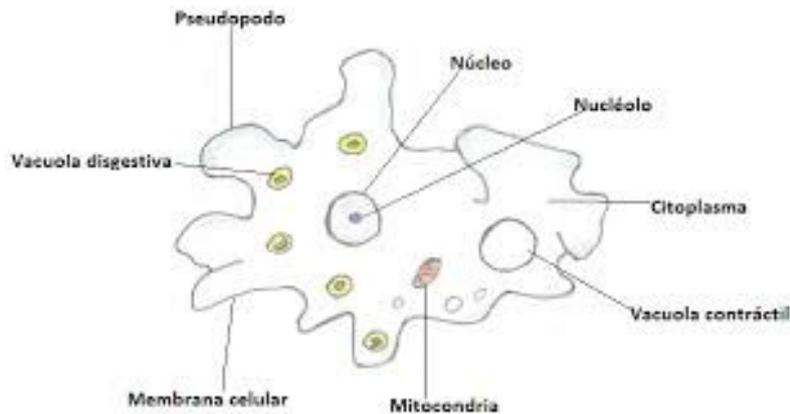
shutterstock.com · 2141212575

Nota: Tomado de <https://www.shutterstock.com/es/search/protozoos> (2021)

- Tomar la muestra biológica de cultivo de protozoarios del fondo o sedimento evitando el exceso sobre la lámina portaobjeto.
- Hacer buen uso del micrométrico cuando el objetivo es de 100X, a fin de evitar la ruptura de las láminas histológicas.

A. Movimiento ameboideo por pseudópodos: *Amoeba proteus* (Clase Sarcodina)

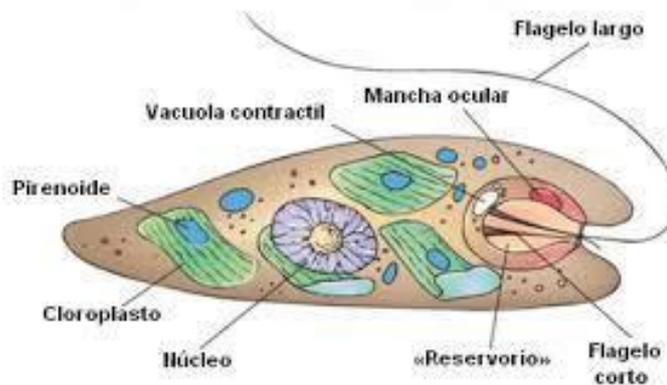
1. Sobre una lámina portaobjeto, con un gotero coloque una gota del cultivo de protozoarios que contenga *Amoeba*, cubrirlo luego con una laminilla cubre objeto.
2. Preparar otra lámina portaobjeto con una gota de muestra y una gota de Verde de metilo o Lugol. Limpiar el exceso luego de cubrirlo con la laminilla.
3. Dibujar las observaciones realizadas con objetivos 10X, 40X y 100X



Nota: Tomado de <https://steemit.com/stem-espanol/@josedelacruz/celulas-protistas-parte-1> (2020)

B. Movimiento flagelar por flagelos: *Euglena viridis* (Clase mastigophora)

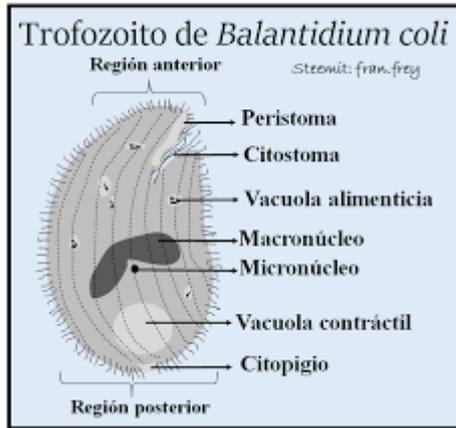
1. Sobre una lámina portaobjeto, con un gotero coloque una gota del cultivo que contenga *Euglena* y cubrir con una laminilla cubreobjeto.
2. Preparar otra lámina portaobjeto con una gota de muestra y una gota de Verde de metilo o Lugol. Limpiar el exceso luego de cubrirlo con la laminilla.
3. Dibujar las observaciones realizadas con objetivos 10X, 40X y 100X.



Nota: Tomado de <https://brainly.lat/tarea/31304848> (2021)

C. Movimiento ciliar por ciliosos: *Paramecium caudatum* (Clase ciliophora)

1. Sobre una lámina portaobjeto, con un gotero coloque una gota del cultivo que contenga *Paramecium* y cubrir con una laminilla cubreobjeto.
2. Preparar otra lámina portaobjeto con una gota de muestra y una gota de Verde de metilo o Lugol. Limpiar el exceso luego de cubrirlo con la laminilla.
3. Dibujar las observaciones realizadas con objetivos 10X, 40X y 100X.



Nota: Tomado de <https://steemit.com/stem-espanol/@fran.frey/parasitologia-or-que-sabes-sobre-balantidium-coli> (2020)

Uno de los cilióforos protozoarios parásitos para el hombre es *Balantidium coli* el mismo que puede ser observado en muestras de heces de cerdo.

D. Observación de cilios en tejidos humanos

En tejidos epiteliales humanos como el epitelio cilíndrico del oviducto y el epitelio pseudoestratificado de las vías respiratorias entre otros, presentan como estructura de movimiento cilios en su dominio apical con función específica como el transporte del ovocito y barrera mecánica de protección respectivamente. Observe al microscopio láminas fijas y coloreadas con hematoxilina y eosina.

V. Resultados

.....

.....

.....

.....

VI. Conclusiones

.....

.....

.....

.....

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

Semana 4: Sesión 4

OBSERVACIÓN DEL NÚCLEO CELULAR EN ELEMENTOS FORMES DE LA SANGRE

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 240 minutos

Docente: Unidad: 1

Nombres y apellidos:

Instrucciones

Leer con previsión la presente Guía de práctica considerando las medidas de Bioseguridad en la toma de muestra de sangre periférica.

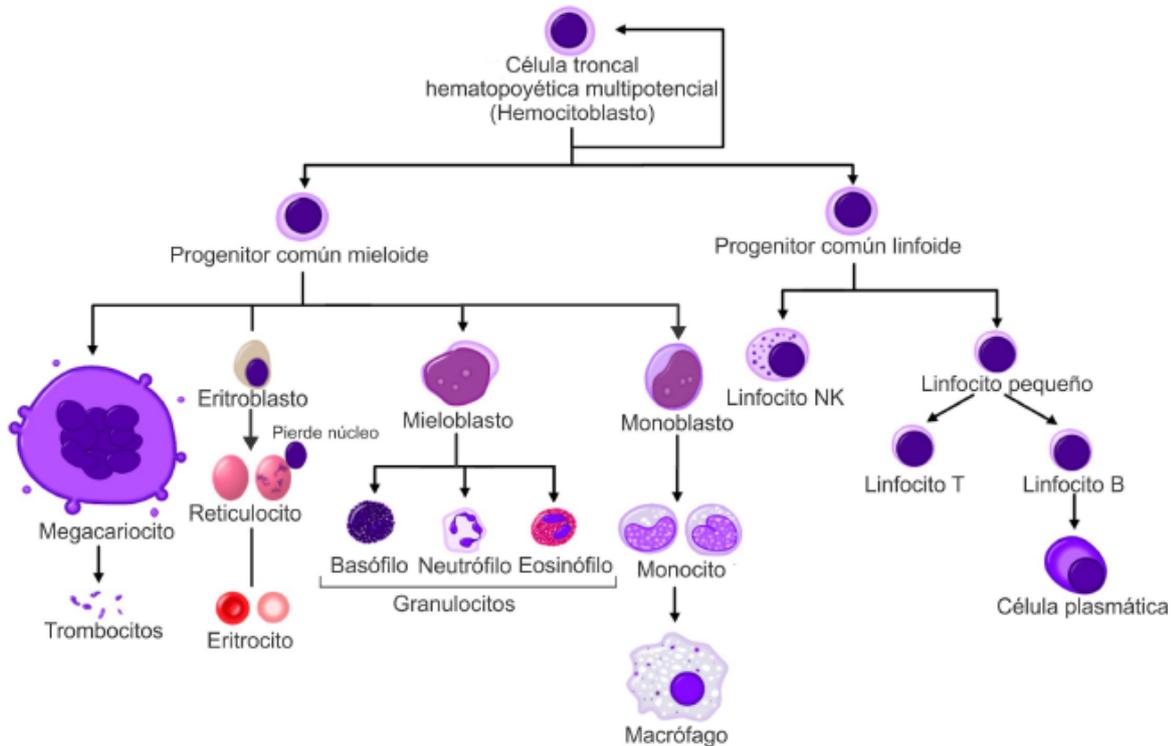
I. Propósito

Identificar los diferentes elementos formes de la sangre como eritrocitos, leucocitos y plaquetas en sangre periférica humana y de aves.

Observar las diferentes formas nucleares y su contenido en leucocitos.

II. Fundamentos teóricos

El núcleo constituye una de las principales características estructurales que presentan las células eucarióticas. Su importancia en la célula se debe a que contiene el material genético, nos referimos al ADN, al interior de su cromatina y protegido por la proteína *histona* de naturaleza básica.



Nota: Tomado de <https://es.khanacademy.org/science/biology/human-biology/circulatory-pulmonary/a/components-of-the-blood> (2020)

Dentro del núcleo se encuentra el nucléolo conformado básicamente por ARN y proteínas. El número de nucléolos dependerá de la actividad metabólica de la célula en relación a la síntesis de proteínas debido a que da origen a los ribosomas. En la periferia del carioplasma o nucleoplasma limitando con la carioteca o membrana nuclear se encuentran las proteínas denominadas *lamininas* que participa en la desorganización de la carioteca durante la división celular.

Las tinciones usadas para fines histopatológicos nos permitirán diferenciar el núcleo en cuanto a su forma y coloración que adopta respecto al citoplasma de la célula. Un buen ejemplo es lo que nos muestra las células sanguíneas debido a las variaciones del núcleo celular principalmente en los leucocitos o glóbulos blancos. Así mismo, a diferencia de las células humanas los eritrocitos, que no presentan núcleo en su maduración, los eritrocitos de las aves sí las poseen.

Eritrocitos en aves

Si se puede obtener una muestra de sangre de aves, se podrá observar que a diferencia de los mamíferos los glóbulos rojos o eritrocitos en aves, son células nucleadas grandes y ovoides o elípticas. El núcleo de color púrpura se ubica en la parte central.

Los leucocitos o glóbulos blancos en las aves presentan cierta similitud a los mamíferos. Los neutrófilos toman el nombre de heterófilos con núcleos en banda o lobuladas.

5.2. Leucocitos humanos granulares

a. Neutrófilos segmentados o adultos

Presenta un núcleo con varios lóbulos (2 a 5) unidas por bandas de cromatinas.

b. Neutrófilos en banda o abastionados o juveniles

Presenta un núcleo no dividido en forma de "S" o en cayado "O".

c. Eosinófilos

Reaccionan con tintes ácidos. Son redondos, voluminosos, con granulaciones acidófilas de color anaranjado, núcleo con dos lóbulos.

d. Basófilos:

Reaccionan con tintes básicos. Son escasos de 0-1 %, presenta un núcleo difícil de observar, pues se halla cubierto por una granulación de color violeta o morado oscuro que contienen histamina y heparina.

5.3. Leucocitos humanos agranulares

a. Linfocitos

De forma redonda e irregular, su núcleo es morado, voluminoso y ocupa la mayor parte de la célula, el citoplasma es azul y sin granulaciones. Su número aumenta con las infecciones.

b. Monocitos

De forma redonda u ovalada de 15 a 20 mm de diámetro, núcleo variable generalmente en forma de riñón, citoplasma sin gránulos. Presenta actividad fagocitaria.

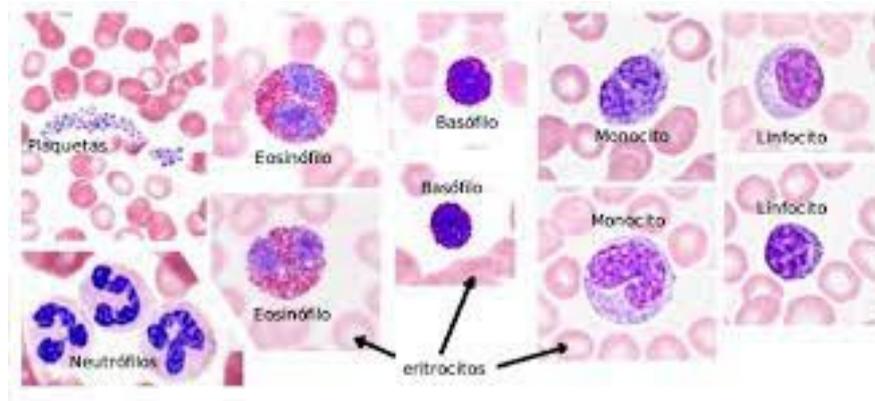
5.4. Plaquetas o Trombocitos o Corpúsculos de Bizzozero o de Zimmermam o Hayem

Las más pequeñas de los elementos de la sangre, de forma redonda y no contienen hemoglobina. Son esenciales en la coagulación de la sangre. Son fragmentos de 2 a 4 mm en cuyo citoplasma presentan gránulos llamados alfa que contiene enzimas como las hidrolasas y catepsinas.

5.6. Hematíes o Eritrocitos o Glóbulos rojos o acariocitos

De forma generalmente redonda o de un disco bicóncavo de 7 a 8 mm de diámetro. Sin núcleo, de color rosa intenso, contiene hemoglobina. La proteína que se encarga del transporte

de oxígeno y anhídrido carbónico.



Nota: Tomado de https://mmejias.webs.uvigo.es/guiada_a_sanguineo.php (2019)

III. Equipos / Materiales

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio óptico compuesto	Fuente de luz LED	4

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Láminas porta y cubre objetos	Sin uso	4
2	Lancetas	hematológicas	2
3	Varillas de coloración	Vidrio	2
4	Piceta	Con agua destilada	1

1.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Alcohol a 70°	En spray	250 ml
2	Colorante Wright	En frasco con gotero	100 ml

Las torundas de algodón serán dispuestas por el laboratorio. La sangre de aves puede ser extraída en vacutainer EDTA el cual servirá como medio de transporte.

IV. Indicaciones y procedimientos

Obtención de sangre capilar.

- Desinfectar el dedo anular con alcohol y algodón y con una lanceta estéril punzar el dedo y dejar caer una gota de sangre sobre un extremo de la lámina portaobjetos.
- Con ayuda de otra lámina portaobjeto formar un ángulo de 45° y realizar un frotis o extendido, tratando de esparcir homogéneamente la gota de sangre sobre la superficie de la lámina.
- Dejar secar la preparación al ambiente y proceder luego a la coloración con Wright o Giemsa.

4.3. Coloración

- Cubrir con colorante Wright o Giemsa por un minuto.

- b. Sin eliminar el colorante agregar agua destilada y dejar actuar por diez minutos.
- c. Eliminar luego el colorante lavando suavemente con agua de caño inclinando la lámina portaobjeto y dejar secar.
- d. Proceder a observar al microscopio con el objetivo de 100X y aceite de inmersión.

V. Resultados

.....

.....

.....

.....

VI. Conclusiones

.....

.....

.....

.....

VIII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

Segunda **Unidad**

Componentes celulares: Funciones y características de los principales organelos de las células eucariotas

Semana 5: Sesión 5

PERMEABILIDAD SELECTIVA DE LA MEMBRANA CELULAR

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 240 minutos

Docente: Unidad: 2

Nombres y apellidos:

Instrucciones

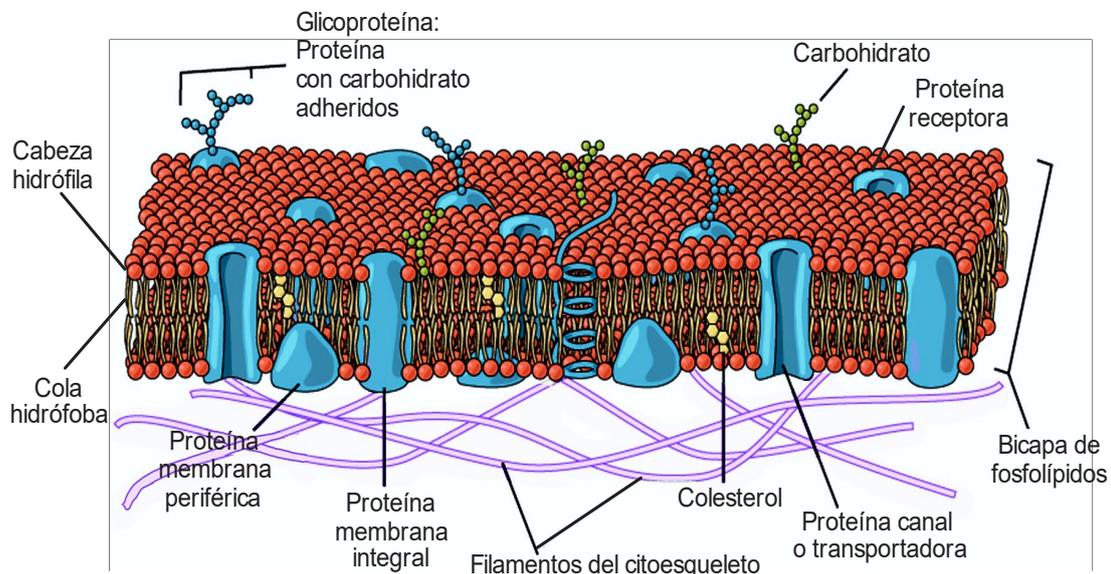
Leer con previsión la presente guía de práctica considerando las medidas de Bioseguridad en la toma de muestra sanguínea y durante el procesamiento del lavado de los eritrocitos.

I. Propósito

- Reconocer las propiedades de permeabilidad de la membrana celular.
- Establecer las diferencias de transportes de moléculas a través de la membrana.
- Observar los cambios que experimenta la célula en diferentes medios de presión osmótica.

II. Fundamentos teóricos

La membrana plasmática de las células eucarióticas es una estructura dinámica formada por dos capas de fosfolípidos en donde interactúan moléculas de colesterol y proteínas. Los fosfolípidos tienen una cabeza hidrófila y dos colas hidrófobas.



Nota: Tomado de <http://archive.cnx.org/contents/08a457f1-4667-4483-9f06-d0e8d8c48fda@2/la-membrana-celular> (2020)

Las dos capas de fosfolípidos se sitúan con las cabezas hacia fuera y las colas, enfrentadas hacia adentro. Es decir, los grupos hidrófilos se dirigen hacia la fase acuosa de la capa exterior de la membrana con el líquido extracelular e intracelular y la capa interior hacia el interior de la bicapa. Las proteínas embebidas en las capas de fosfolípidos cumplen la función de transportar grandes moléculas hidrosolubles, como azúcares y ciertos aminoácidos. También hay proteínas y

fosfolípidos unidas a carbohidratos (glicoproteínas y glicolípidos) embebidas en la membrana y cuya porción de oligosacáridos queda al exterior con el fin de constituir en porción de receptores de membrana para hormonas, enzimas y agentes patógenos como virus. También constituyen antígenos de reconocimiento celular como el complejo mayor de histocompatibilidad.

III. Equipos / Materiales

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio óptico	Fuente de luz LED	3
2	Centrífuga	5000rpm	1

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Láminas porta objetos	Sin uso	6
2	Láminas cubre objetos	Sin uso	6
3	Tubos de ensayo	13 x 100	6
4	Gradilla	polipropileno	1
5	Pipeta Pasteur	vidrio	3
6	Beaker	50 ml	1

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Solución salina	0,2%	50 ml
2	Solución salina	0,9%	250 ml
3	Solución salina	5%	50 ml
4	Tinta china	En frasco con gotero	10 ml

IV. Indicaciones y procedimientos

La toma de muestra sanguínea se tomará con Vacutainer EDTA y lancetas. El laboratorio proveerá alcohol y algodón. Los alumnos traerán catafilo de cebolla

La toma de muestra sanguínea se realizará en condiciones de bioseguridad. Se eliminarán los vacutainer en los depósitos destinados para este fin.

Las láminas y laminillas podrán ser reutilizadas si son sometidas previamente en solución sulfocrómica.

- **DIFUSIÓN DE SOLUTOS:**

- Colocar en dos vasos de precipitación agua destilada, en una fría y en la otra caliente.
- Adicionar una gota de tinta a cada uno y observar la velocidad de difusión.

OBSERVACIONES	INTERPRETACIÓN

• **OSMOSIS:**

- Limpiar y desinfectar con alcohol y algodón el pulpejo de uno de los dedos.
- Pinchar con la lanceta y colocar una gota de sangre en tres láminas distintas realizando un extendido ligero. Así mismo extender porciones de catafilo de cebolla en tres láminas distintas.
- Agregar las soluciones salinas: 0,2%, 0,9% y 5% respectivamente. Observar al microscopio.

OBSERVACIONES		INTERPRETACIÓN
sangre	catafilo	

• **LAVADO DE GLÓBULOS ROJOS:**

- En un tubo 13×100 con EDTA obtener muestra de sangre periférica en un volumen aproximado a la quinta parte del tubo de ensayo y luego adicionar solución salina al 0,9% en un volumen que cubra las tres cuartas partes del tubo de ensayo. Proceder a centrifugar a 3 500 rpm por 10 minutos.
- Si el sobrenadante muestra hemólisis muy marcado entonces la solución salina no se encuentra en la concentración adecuada pues se ha expuesto a un medio hipotónico ha pues provocado hemólisis.
- Si el sobrenadante muestra ligera hemólisis entonces retirar el sobrenadante y adicionar al paquete de glóbulos rojos solución salina al 0,9% hasta las tres cuartas partes del tubo de ensayo y proceder a centrifugar a 3 500 rpm por 10 minutos.
- Al finalizar se observa el sedimento de glóbulos rojos bien constituido y un sobrenadante transparente.
- Puede obtener muestra de glóbulos rojos lavado con una pipeta Pasteur y adicionarlo a dos tubos de ensayo a fin de agregar solución salina al 0,2% y 5% respectivamente y observar si

hubo hemólisis y crenación tomando una muestra, luego de centrifugarlo, para observarlo al microscopio. Verifique la coloración del sobrenadante.

OBSERVACIONES	INTERPRETACIÓN

V. Resultados

.....

.....

.....

.....

VI. Conclusiones

.....

.....

.....

.....

VIII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

Semana 6: Sesión 6

PERMEABILIDAD SELECTIVA DE LA MEMBRANA CELULAR

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 240 minutos

Docente: Unidad: 1

Nombres y apellidos:

Instrucciones

Leer y seguir las indicaciones para el desarrollo del taller.

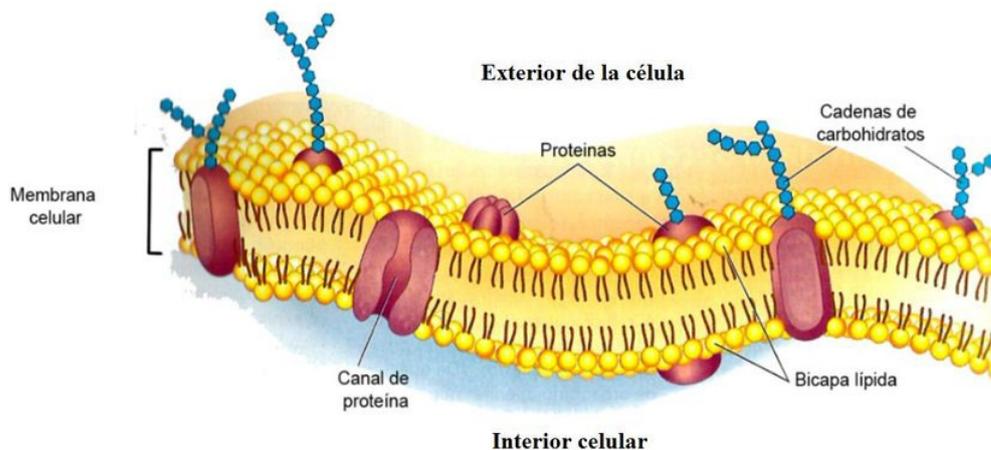
I. Propósito

Conocer el fundamento molecular del transporte a través de las membranas

II. Fundamentos teóricos

Membranas Biológicas: Modelo del MOSAICO FLUIDO

Un mosaico es una especie de rompecabezas en el que armamos una figura completa a partir de partes más pequeñas. El agua, el aceite, los líquidos en general son fluidos.

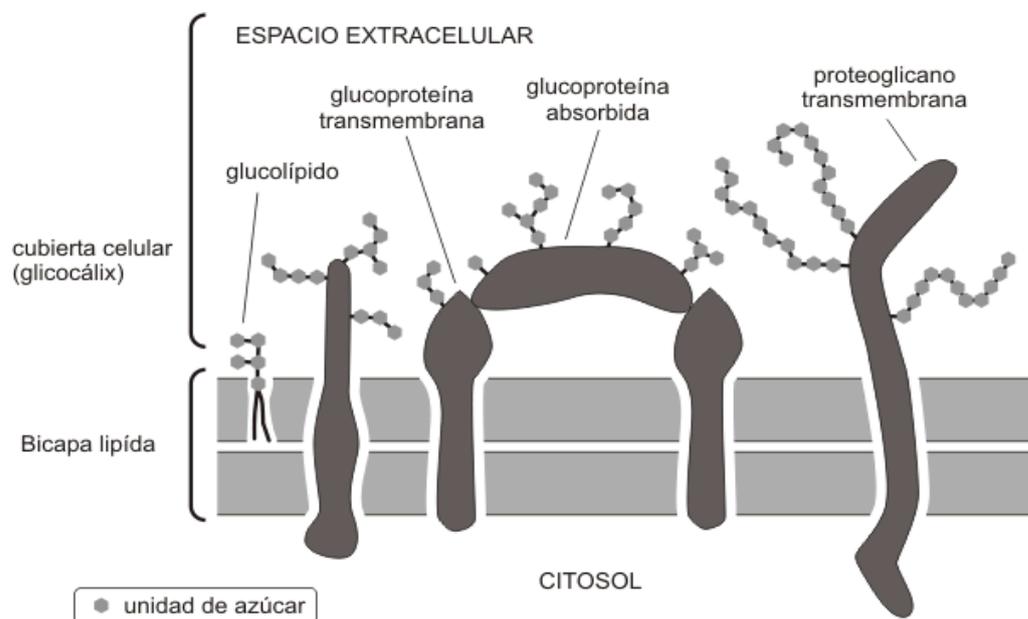


Nota: Tomado de https://www.researchgate.net/figure/Figura-2-1-Modelo-de-mosaico-fluido-de-la-membrana-celular-Fuente-wwwmediatecacl_fig5_324573924 (2022)

Según el MODELO DE MOSAICO FLUIDO, las membranas están formadas por dos capas de fosfolípidos en la que se incluyen una gran variedad de proteínas, lípidos y carbohidratos. Las partes constituyentes están unidas pero conservan su independencia lo cual les permite ciertos movimientos. Las membranas celulares dividen a las células en compartimentos (u organelas), permitiéndoles realizar actividades especializadas dentro de pequeñas áreas del citoplasma, concentrar reactivos y organizar reacciones metabólicas.

Carbohidratos de membrana.

Se ubican exclusivamente en el lado extracelular, generalmente unidos a lípidos (que forman la bicapa lipídica) o a proteínas y en conjunto forman el GLUCOCALIZ que participa en el mecanismo de formación de una superficie, en la permeabilidad, en el reconocimiento y en la protección celulares.



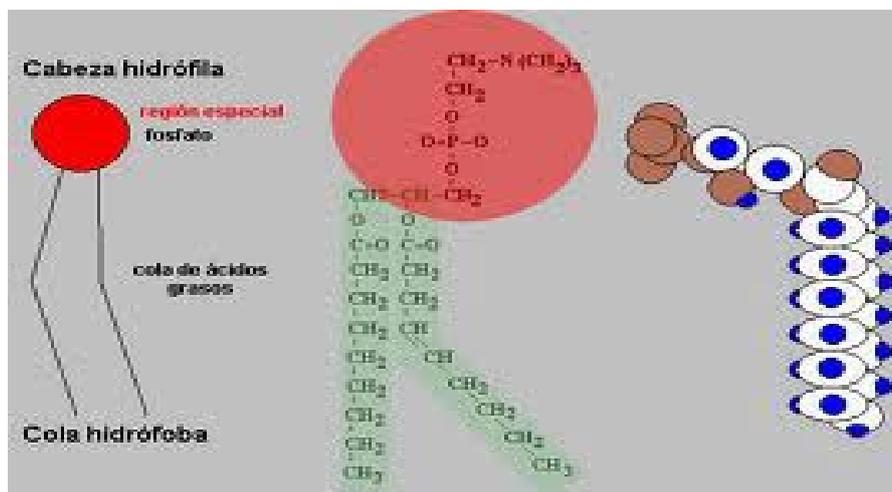
Nota: Tomado de: genomasur.com (2021)

Lípidos de membrana

Encontramos dos tipos de lípidos en las membranas: los fosfolípidos y el colesterol.

Los fosfolípidos son moléculas anfipáticas y ya que *anfi* significa doble, *patico* viene de empatía, afinidad, entonces estas moléculas tienen dos regiones hidrófoba e hidrofílica. Las cabezas hidrofílicas atraerán al agua, forman ambas superficies de la bicapa y sus cadenas hidrófobas de ácidos grasos, repelerán al agua, se ubican en el interior.

Las moléculas de colesterol se ubican entre los fosfolípidos.

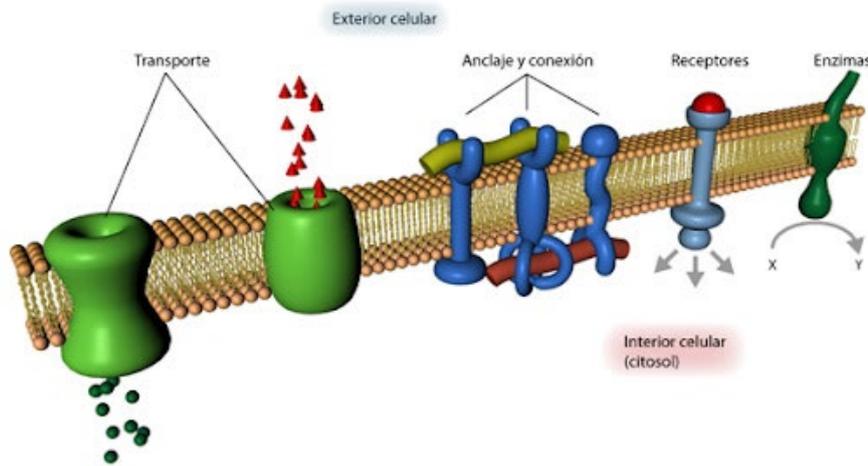


Nota: Tomado de: biologia.edu.ar (2020)

En la mayoría de las membranas los lípidos de la bicapa están en un estado fluido o líquido cristalino, lo que permite a la molécula de lípido moverse rápidamente en el plano de la membrana. Las proteínas también se mueven dentro de la membrana. Las bicapas lipídicas son flexibles, se auto sellan, es decir pueden volver a cerrarse si en un momento se sepan e incluso pueden fusionarse con otras membranas.

Proteínas de membrana

En las membranas encontramos diversos tipos de proteínas en la membrana. Las proteínas **integrales o intrínsecas** de membrana están incluidas en la bicapa con su superficie hidrofílica expuesta al entorno acuoso y su superficie hidrófoba en contacto con el interior hidrófobo de la bicapa. Las proteínas **transmembranosas** son proteínas integrales que se extienden completamente a través de toda la membrana.



Nota: Tomado de http://www.wikillerato.org/La_membrana_plasm%C3%A1tica.html (2021)

Las proteínas **periféricas** de membrana se asocian con la superficie de la bicapa, uniéndose, generalmente, a regiones expuestas de proteínas integrales, y se pueden extraer fácilmente sin romper la estructura de la membrana. Mientras que las **extrínsecas** se anclan a una proteína periférica.

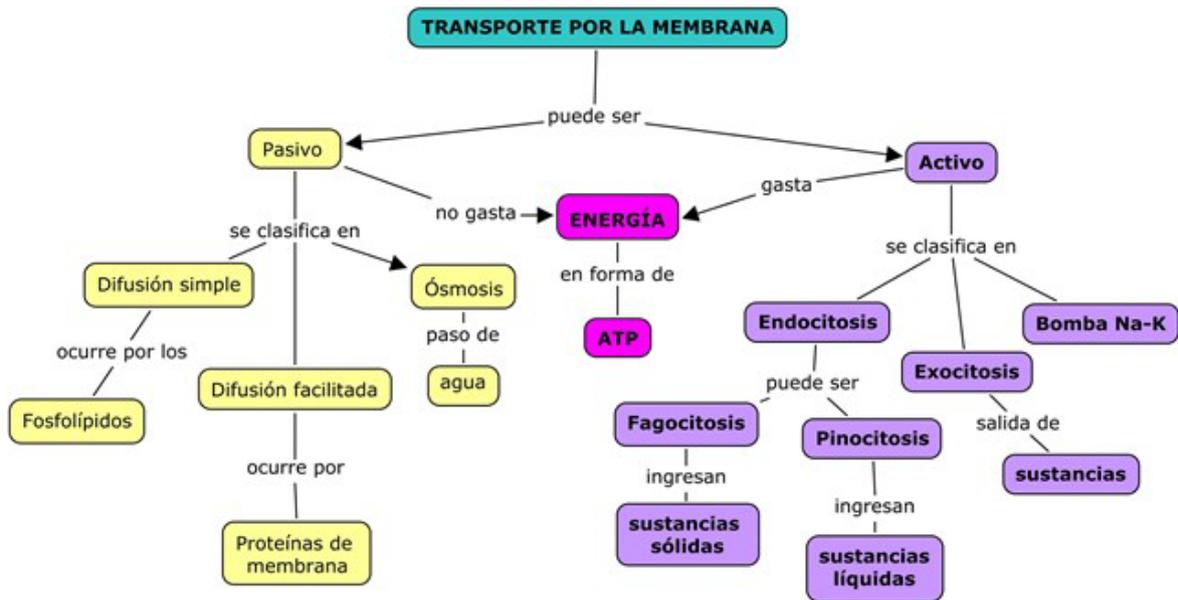
Las proteínas de membrana tienen muchas funciones, por ejemplo, transportan materiales, actúan como enzimas o receptores, reconocen a otras células y también las unen estructuralmente.

Tipos de transporte a través de las membranas

Las membranas biológicas son **selectivamente permeables**: permiten el paso de algunas sustancias, pero no de otras, regulando el paso de las moléculas que entran y salen de la célula y de sus componentes, el volumen y la composición interna de iones y moléculas.

Las proteínas cumplen la función de transporte facilitando el paso de ciertos iones y moléculas cuyo paso no está permitido. Cuando se unen al soluto específico que van a transportar sufren una serie de cambios estructurales.

Existen dos mecanismos de transporte:



Nota: Tomado de <https://www.investigencias.com/> (2020)

III. Equipos / Materiales

Los estudiantes deberán llevar los datos solicitados por el docente previamente.
Papel y materiales de escritorio.

IV. Indicaciones y procedimientos

Siguiendo lo estudiado en la clase teórica, traer ejemplos de cada uno de los tipos de transporte a través de las membranas.

El docente organizara grupos de trabajo para preparar un material que permita explicar el tipo de transporte que le toca al grupo.

V. Resultados

.....

.....

.....

.....

VI. Conclusiones

.....

.....

.....
.....

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....
.....
.....
.....

Semana 7: Sesión 7

ESTUDIO DE ORGÁNULOS CELULARES: MITOCONDRIAS Y CLOROPLASTOS

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 240 minutos

Docente: Unidad: 2

Nombres y apellidos:

Instrucciones

Leer con previsión la presente Guía de práctica y considerar las muestras biológicas requerida por grupo o mesa de trabajo.

I. Propósito

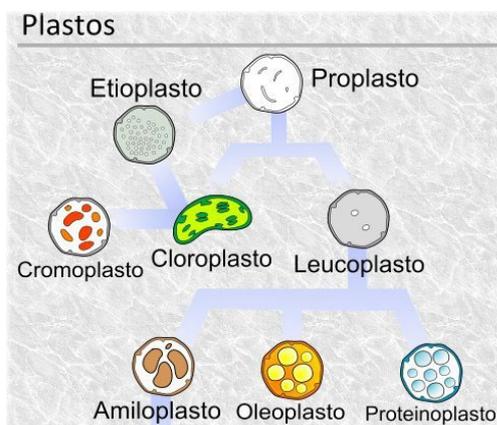
Reconocer mediante tinción especial a las mitocondrias en células superiores.

Reconocer a los principales plastidios vegetales como los cloroplastos en algas y vegetales.

Relacionar los procesos metabólicos en orgánulos de doble membrana como la respiración celular y la fotosíntesis.

II. Fundamentos teóricos

En células eucarióticas se puede observar dos organelos citoplasmáticos que comparten el hecho de estar constituido por doble membrana, nos referimos a la mitocondria y al cloroplasto el principal plastidios vegetal.



Nota: Tomado de <https://www.google.es/search?q=plastos> (2020)

Las mitocondrias son consideradas las maquinarias para la síntesis de ergomoléculas es decir ATP. En su mitosol o matriz ocurre el ciclo de Krebs o ciclo del ácido tricarboxílico y en la cresta, perteneciente a su membrana interna, ocurre la cadena respiratoria o fosforilación oxidativa en donde se produce la mayor síntesis de ATP.

Los vegetales presentan como organelos diferenciales, respecto a los animales, a los plastidios. Dichas organelas pueden contener pigmentos o pueden sintetizar y acumular diversas sustancias, como los *Leucoplastos* que son plastidios que no poseen pigmentos puesto que almacenan sustancias de reserva. Así tenemos a los *Amiloplastos* que almacenan almidón, los

Proteinoplastos que acumulan proteínas, los *Elaoplastos* que contienen grasas y aceites esenciales. Los *Cromoplastos* son plastidios coloreados por pigmentos muchos de los cuales son precursores de vitaminas o constituir antioxidantes a neutralizar radicales libres como el *Caroteno* que presenta un pigmento de color naranja, el *Licopeno* de color rojo, la *Xantofila* de color amarillo y los *Cloroplastos* que presentan un pigmento de color verde y cuya función principal es realizar la fotosíntesis.

III. Equipos / Materiales

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio óptico compuesto	Fuente de luz LED	3

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Placas Petri	Vidrio	3
2	Piceta	Con agua destilada	1
3	Láminas porta y cubre objetivos	Sin uso	6
4	Pinzas	Metálica	3
5	Hoja de afeitar		1
6	Papel filtro	Cuantitativo	3

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Verde Janus	Diluido en 1:10000 en gotero	50 ml
2	Lugol	En gotero	50 ml
3	Ázul de metileno	En gotero	50 ml

Los estudiantes deberán traer Hoja de Elodea, Ají amarillo, Zanahoria, Tubérculo de papa, Betarraga como parte de las muestras biológicas que deberán ser procesadas.

IV. Indicaciones y procedimientos

Durante el procesamiento de la muestra de origen vegetal siempre deberá permanecer húmedo y sobre el papel filtro en la placa Petri.

El uso de la hoja de afeitar o en su defecto el bisturí, durante el procesamiento de la muestra, se realizará con el mayor cuidado.

A. Observación de mitocondria en epitelio bucal

1. Con una lámina limpia portaobjeto y mediante un raspado suave obtener una muestra de la mucosa bucal.
2. Realizar un frotis extendiendo la muestra con otra lámina.
3. Dejar secar la lámina con la muestra al medio ambiente.
4. Cubrir la muestra con suero fisiológico, lugol y otro con Verde Janus durante 5 minutos.
5. Eliminar el exceso de suero, colorante respectivamente y dejar secar al medio ambiente.
6. Observar al microscopio con objetivos de 10X, 40X y 100X.

B. Observación de plastidios en vegetales

Cloroplastos: Se localizan en las hojas debajo de la epidermis superior en el tejido que corresponde al parénquima clorofiliano o clorenquima.

1. Seleccionar una hoja joven de Elodea y realizar un corte transversal lo más delgado posible haciendo uso de una hoja de afeitar y colocarla sobre una gota de agua en una lámina portaobjeto.
2. Cubrir la muestra con una laminilla.
3. Observar al microscopio con objetivo de menor y mayor aumento.

Cromoplastos: Son organelas con pigmento no fotosintético. Dichas organelas presentan formas variadas (redondeadas, elípticas o aciculares).

1. Realizar cortes finos de zanahoria, ají amarillo, betarraga sobre una lámina portaobjeto.
2. Colocar una gota de agua sobre el corte.
3. Cubrir la muestra con una laminilla.
4. Observar al microscopio con objetivo de menor y mayor aumento.

Amiloplastos: Son plastidios de almacén que contienen almidón como sustancia de reserva energética.

1. Sobre una lámina portaobjeto colocar una gota de Lugol.
2. Agregar un trozo delgado de papa.
3. Cubrir la muestra con una laminilla.
4. Observar al microscopio con objetivo de menor y mayor aumento.

V. Resultados

.....
.....
.....
.....

VI. Conclusiones

.....
.....
.....
.....

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....
.....
.....
.....

SEMANA 8: EVALUACION PARCIAL

Tercera **Unidad**

Mitosis y Meiosis

Semana 9: Sesión 8
EXTRACCION Y ANALISIS DEL DNA

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 240 minutos

Docente: Unidad: 3

Nombres y apellidos:

Instrucciones

Leer con previsión la presente Guía de práctica a fin de interpretar los procesos que se llevaran a cabo en la práctica.

I. Propósito

- Obtener ADN de muestras biológicas.
- Purificar y evaluar la composición de bases nitrogenadas del ADN obtenido.
- Interpretar la información obtenida.

II. Fundamentos teóricos

La biología molecular es una de las herramientas más útiles de las que se vale hoy en día a ciencia y la medicina moderna. La obtención de ácido desoxirribonucleico (ADN), es el punto de partida para la mayoría de análisis genéticos; incluso contando con pequeñas cantidades. El ADN se encuentra en el interior del núcleo de todas las células, disperso y muy replegado, unido a proteínas para formar la cromatina. Por lo tanto, podremos extraerlo a partir de prácticamente cualquier material de origen biológico. 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. El objetivo de los pasos de purificación es separar el DNA de materiales contaminantes, como RNA y proteínas. Para lo cual es necesario homogeneizar el tejido disgregándolo y separando sus células y demás componentes, luego romper las células para separar el núcleo y romper éste para liberar el ADN, separarlo de las proteínas y precipitarlo para separarlo de la solución acuosa.

El ADN (y también algo de ARN) aparecerá entonces como un agregado de fibras blanquecinas de aspecto mucoso que se adhieren a una varilla de vidrio o a la pipeta. La biología molecular es una de las herramientas más útiles de las que se vale hoy en día a ciencia y la medicina moderna. La obtención de ácido

desoxirribonucleico (ADN), es el punto de partida para la mayoría de análisis genéticos; incluso contando con pequeñas cantidades. El ADN se encuentra en el interior del núcleo de todas las células, disperso y muy replegado, unido a proteínas para formar la cromatina. Por lo tanto, podremos extraerlo a partir de prácticamente cualquier material de origen biológico. 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. El objetivo de los pasos de purificación es separar el DNA de materiales contaminantes, como RNA y proteínas. Para lo cual es necesario homogeneizar el tejido disgregándolo y separando sus células y demás componentes, luego romper las células para separar el núcleo y romper éste para liberar el ADN, separarlo de las proteínas y precipitarlo para separarlo de la solución acuosa. El ADN (y también algo de ARN) aparecerá entonces como un agregado de fibras blanquecinas de aspecto mucoso que se adhieren a una varilla de vidrio o a la pipeta.

Espectro de absorción de bases nitrogenadas:

Debido a que la absorbancia es proporcional al grosor de una muestra y la concentración de la sustancia en ésta, es necesario analizar la longitud de onda (λ) adecuada para cada muestra, en nuestro caso para cada nucleótido. Como cada sustancia tiene unas propiedades espectrales únicas, distintas sustancias producen distintos espectrogramas. Esto se debe a que cada sustancia tiene un arreglo de átomos tridimensional particular que hace que cada sustancia tenga características únicas. Al ser expuestos a la luz del espectrofotómetro, algunos electrones de los átomos que forman las moléculas absorben energía entrando a un estado alterado.

Al recuperar su estado original, la energía absorbida es emitida en forma de fotones. Esa emisión de fotones es distinta para cada sustancia, generando un patrón particular, que varía con el largo de onda usado. Dependiendo del largo de onda, será la cantidad de energía absorbida por una sustancia, lo que logra generar un espectro particular al graficar Abs vs. λ . Denominamos espectro de una sustancia a la representación de absorbancia (A) en función de longitud de onda (λ), este gráfico presenta ondulaciones con máximos y mínimos. Para hacer las determinaciones cuantitativas se elige, en general, la longitud de onda correspondiente a un máximo, pues el error de medición es mínim

o y la sensibilidad máxima. Estos se muestran en la tabla siguiente:

Análisis espectrofotométrico del DNA

Los ácidos nucleicos absorben eficientemente luz ultravioleta debido a la presencia de bases aromáticas nitrogenadas a lo largo de las cadenas de DNA. La absorción de UV de DNA es una característica de la molécula, que es usada eficientemente para determinar su concentración. Cada una de las bases tiene su propio y único **espectro de absorción** y por lo tanto contribuye de manera diferente a la propiedad total de absorción de UV de una molécula de DNA.

III. Equipos / Materiales

Equipos, Materiales y Reactivos

Equipos:

Ítem	Materiales	Característica	Cantidad
1	Incubadora	A 58°C	1
2	Espectrofotómetro	Con 5 cubetas	1
3	Centrífuga	5000 rpm	
4	Balanza		1
5	Termómetro	- 50 ° C	1

Materiales

Ítem	Materiales	Característica	Cantidad
1	Mortero con pilón	Porcelana	1
2	Beaker	25, 50, 100 ml	3
3	Gasa estéril	paquete	1
4	Tubos de ensayo	con gradilla	5
5	Bagueta de vidrio		1
6			

Reactivos

Ítem	Reactivos	Característica	Cantidad
1	Solución A: NaCl + EDTA	En frasco etiquetado	100ml
2	Solución B: NaCl 15M	En frasco etiquetado	100ml
3	Solución C: NaCl 0,1M + Citrato de Na 0.01M	En frasco etiquetado	100ml
4	Solución de LISIS: SDS 1% + EDTA 0.3% + NaCl 0.9%	En frasco etiquetado	100ml
5	Cloroformo	En frasco	50ml
6	Alcohol isoamílico		100ml
7	EDTA		50ml
8	SDS		20ml
9	Etanol	En frasco	100ml
10	Etanol frío	En frasco	100ml

11	Hielo	En bandeja	5 vasitos
12	NaOH	En frasco	1N

OJO: los estudiantes deberán traer las gónadas de *Argopecten*: conchas de abanico del mercado frescas, y 25 g de *Pisum sativum*: arvejas congeladas. Dejar en la refrigeradora de la universidad hasta la realización de la práctica.

IV. Indicaciones y procedimientos

Extracción del DNA de gónadas de *Argopecten*:

1. Homogenización de la muestra en un mortero, provocando la lisis celular, con la adición de 20 ml de la solución "A": NaCl y EDTA que permite la inactivación de las nucleasas evitando así algún daño al DNA por esta enzima.

2. Resuspensión del precipitado, pasarlo a un beaker de 25 ml y adicionar 5mL de la solución "A" y 0.5ml de SDS, permitirá obtener una mayor solubilización de las membranas por acción de este detergente.

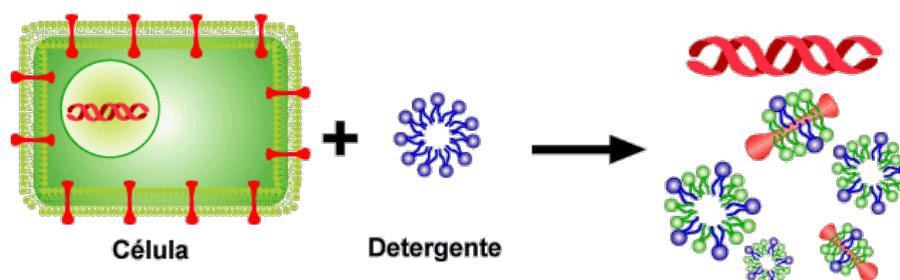
3. Desproteinizado de la mezcla, empleando altas concentraciones de sales: solución "B", 10 ml, crea un medio hipertónico en el cual el agua de la superficie de las proteínas será retirada por la sal provocando su precipitación.

4. Separación del DNA, adicionar a la mezcla final solventes orgánicos como cloroformo 10ml y 10 ml de alcohol isoamílico permitirá precipitar proteínas del sobrenadante y evitar la formación de espuma respectivamente.

5. Concentración del ácido nucleico, luego de una centrifugación, al adicionar etanol frío se obtendrá una mezcla donde el DNA se encuentra en la superficie de esta, debido a que las combinaciones de las sales con el ácido nucleico forman complejos que presentan una solubilidad muy baja en el alcohol. La extracción del DNA en forma de fibras se transportan a una solución "C" (NaCl 0,1M y citrato de Na 0.01M) para su disolución .

1. Se homogenizan en el mortero 12 gr. de muestra congelada de *Pisum sativum* con 25 ml de solución Lisis (SDS 1%, EDTA 0.3 %, NaCl 0.9 %) por un tiempo máximo de 5 minutos. Ello nos permitirá lisar las membranas: cuando el detergente (SDS) 0.5 ml, entra en contacto con la célula, captura los lípidos y las proteínas de la membrana lo cual libera el ADN, además inhibe cualquier actividad nucleasa en la preparación; Se añade 5ml de EDTA, que es un agente quelante que actúa removiendo traza de metales necesarios por endonucleasas para actuar. De esta manera se previene que las endonucleasas que están presentes en el citoplasma de la célula actúen degradando el DNA.

2. Se transvasa el homogenizado a un beaker y se incuba a 58 °C por un tiempo de 15 minutos para terminar de lisar al máximo las membranas y liberar el DNA. El calor suavizará los fosfolípidos (grasas) en las membranas que rodean la célula y el núcleo. También desactivará (desnaturaliza) a las enzimas desoxirribonucleasas (ADNasas) las cuales, si están presentes, pueden cortar el ADN en pedazos tan pequeños que lo haría imposible de ver. Si las enzimas se desnaturalizan y el ADN se desenrolla, éste pierde su forma y se vuelve inactivo. Después, enfriamos el beaker durante 10 minutos a 2 °C, asegurando el estado del DNA.

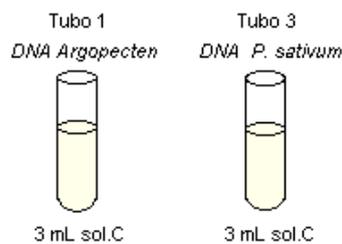


Nota: Fuente propia Fig 1. Cuando el detergente entra en contacto con la célula, captura los lípidos y las proteínas lo cual libera el ADN.

3. Se filtra la solución utilizando gasa estéril. Se precipita el DNA de la solución obtenida empleando 2 volúmenes de etanol frío, el que competirá con el DNA por el agua, deshidratándolo y llevándolo al fondo del tubo. Esto debe ser de forma lenta y por las paredes del beaker. El ADN precipita en la interfase de agua y alcohol (la interfase es la zona entre el agua y el alcohol). Por esto, es crucial verter el alcohol muy despacio de manera que forme una capa sobre la solución acuosa. Si el alcohol se mezcla con el agua, este se diluye demasiado y el ADN no se precipitará. De esta manera, se observará el DNA en forma de filamentos los que serán recuperados con ayuda de una bagueta delgada girando en sentido horario en forma continua. Una vez obtenidas las fibras de DNA, se colocan en un tubo de ensayo con solución C (NaCl 0.1 M y Citrato de Sodio 0.01 M) realizando movimientos circulares en sentido contrario al empleado para extraerlo (antihorario).

Análisis espectrofotométrico del DNA:

Preparar 3 mL de una solución de DNA y solución C (NaCl 0.1 M y Citrato de Sodio 0.01 M) en la proporción de 1:10, para las muestras de DNA de *Argopecten* y *Pisum sativum*.

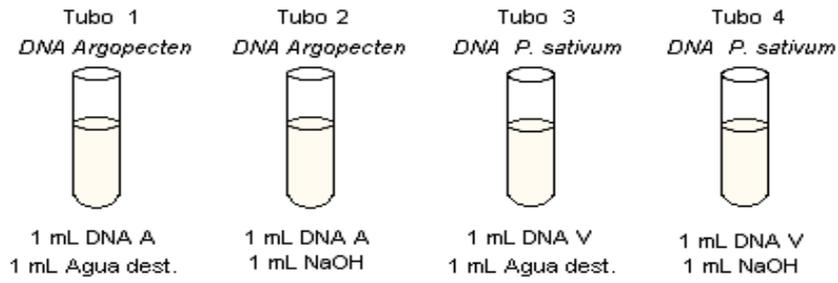


Luego llevar espectrofotómetro registrando las lecturas:

Absorbancia	Tubo 1	Tubo 3
1:10 a 260nm		
1:3 a 260 nm		

Si los valores de absorbancia para ambos tubos no alcanzan el rango de 0.500 se procede a obtener unas nuevas diluciones de las muestras, esta vez en una proporción de 1:3 para una solución de 3 mL de DNA y sol. C, las lecturas deberían estar en el rango pedido.

B. A partir de estos DNA, preparamos tubos de 2 ml cada uno, a dos de los cuales se agregará Hidróxido de sodio 1N y agua destilada a los otros dos de acuerdo al esquema, con el propósito de llevar el DNA de un estado nativo (doble cadena) a un estado denaturado (cadena simple).



Medir las absorbancias de los tubos 2 y 4 a 260 nm; y los tubos 1 y 3 a 280 nm, registrar las lecturas:

	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4
A ₂₆₀				
A ₂₈₀		---		---

Conservar los datos para el taller de evaluación del ADN, la siguiente semana.

V. Resultados

.....

.....

.....

.....

VI. Conclusiones

.....

.....

.....

.....

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

Semana 10: Sesión 9

Mitosis

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 240 minutos

Docente: Unidad: 3

Nombres y apellidos:

Instrucciones

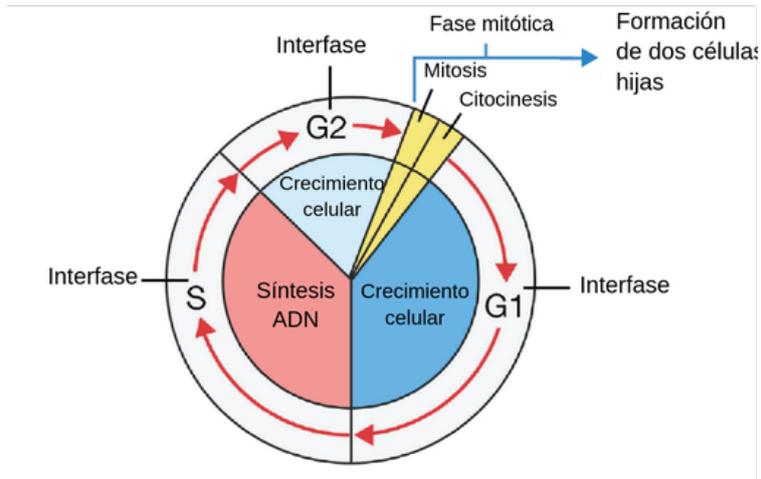
Leer con previsión la presente Guía de práctica a fin de interpretar los procesos que se llevaran a cabo en la práctica.

I. Propósito

Al finalizar la sesión de práctica, el alumno describe las diferentes etapas de la mitosis a partir de láminas coloreadas y determina los índices mitóticos e interfásicos en células meristemáticas de la raíz de *Allium cepa* "cebolla".

II. Fundamentos teóricos

La división de la célula por mitosis, constituye la base del crecimiento y la reparación de tejidos en los eucariotas pluricelulares. También es el medio por el cual los eucariotas unicelulares y muchos eucariotas multicelulares se reproducen asexualmente. EL CICLO celular se inicia en el momento en que se forma una célula hija y termina cuando la célula completa su propia división. Cada vuelta del ciclo pasa por interfase, la mitosis y la división del citoplasma. La célula pasa mayor parte de su vida en la interfase; en esa etapa el número de sus componentes aumentan y es entonces cuando el ADN se duplica. mediante la mitosis el número de cromosomas se mantiene constante de una generación celular a la siguiente. En la cebolla LOS CROMOSOMAS SON grandes, con un número diploide $2n= 16$



Nota Tomado de <https://theory.labster.com/es/cell-cycle/> (2019)

III. Equipos / Materiales

Materiales

Ítem	Materiales	Característica	Cantidad
1	Láminas portaobjeto.		20
2	Láminas cubreobjeto		20
3	Papel lente		10
4	Mechero de alcohol		1
5	Hoja de bisturí		5
6	Pinzas y estiletes		5
7	Pinzas de madera		5
8	Lápiz marcador		5
9	Papel Filtro		4
10	Luna de reloj		5
11	Placa de petri		5

Reactivos

Ítem	Reactivos	Característica	Cantidad
1	Orceína acética 5%.		20
2	Ácido clorhídrico al 10%.		20
3	Agua destilada.		10

Raíces de *Allium cepa* "cebolla", de reciente formación.

Equipos

Ítem	Equipos	Característica	Cantidad
1	Microscopio compuesto	binocular	10

IV. Indicaciones y procedimientos

Colocar el bulbo de cebolla en un recipiente con agua de caño de 4 a 5 días antes de la práctica en un ambiente fresco, cambiar el agua a diario.

Observe hasta que las puntas de las nuevas raíces crezcan unos 3 cm. De largo

- Seleccione, corte y conserve la porción del ápice que posee un tejido blanquecino (2- 3cm del extremo de la raíz) deseche el resto Fijación

- Coloque el tejido meristemático en una placa de petri y agregue Hcl al 10% hasta cubrir la muestra.

- Deje por 10 minutos. (rompe la pared celular)

- Transferir los apices a agua destilada y dejarlos durante 5 minutos.

Coloración

- Coloque el tejido sobre una luna de reloj.

- Agregue orceína acética 5% hasta cubrir el tejido.

- Caliente la muestra suavemente hasta la emisión de vapores blancos, no debe permitirse la ebullición del colorante y verifique que el tejido permanezca humedecido.

- Dejar enfriar.

- Repetir por 03 veces el calentamiento y enfriamiento.

Montaje

- Coloque una raíz sobre una lámina portaobjetos y añada 01 gota de orceína fría, cubra la muestra con una laminilla.

- Con la punta de un lápiz presione cuidadosamente y golpee describiendo círculos concéntricos para permitir la extensión del tejido meristemático.

- Elimine el exceso de colorante usando un trozo de papel de filtro y realice el aplastamiento con el pulgar de izquierda a derecha (squash) lo que permite que el tejido meristemático permanezca en el mismo plano.

- Si es necesario, levante el cubreobjetos con la ayuda de un estilete y agregue una gota adicional de orceína acética; coloque nuevamente el cubreobjetos sobre la muestra.

V. Resultados

.....

.....

.....

.....

VI. Conclusiones

.....

.....

.....

.....

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

Semana 11: Sesión 10
Herencia de los caracteres faciales

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 240 minutos

Docente: Unidad: 3

Nombres y apellidos:

Instrucciones

Leer con previsión la presente Guía de práctica a fin de interpretar los procesos que se llevaran a cabo en la práctica.

I. Propósito

Al finalizar la sesión de práctica, el alumno será capaz de determinar el fenotipo de un individuo a partir de la combinación aleatorio de dos progenitores.

II. Fundamentos teóricos

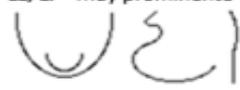
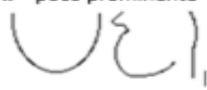
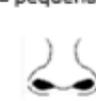
“La cara es el espejo del alma” dice un viejo y conocido refrán, pero para los biólogos en realidad no lo es, “La cara es el espejo de los Genes”, nos parecemos a nuestros padres, y nuestros hijos se nos parecen, debido a esa herencia que se transmite, la genética. Pero si no somos idénticos a nuestro padre o a nuestra madre es porque no somos clones, sino que procedemos en un 50% de papá y en el otro 50% de mamá.

III. Equipos / Materiales

Materiales

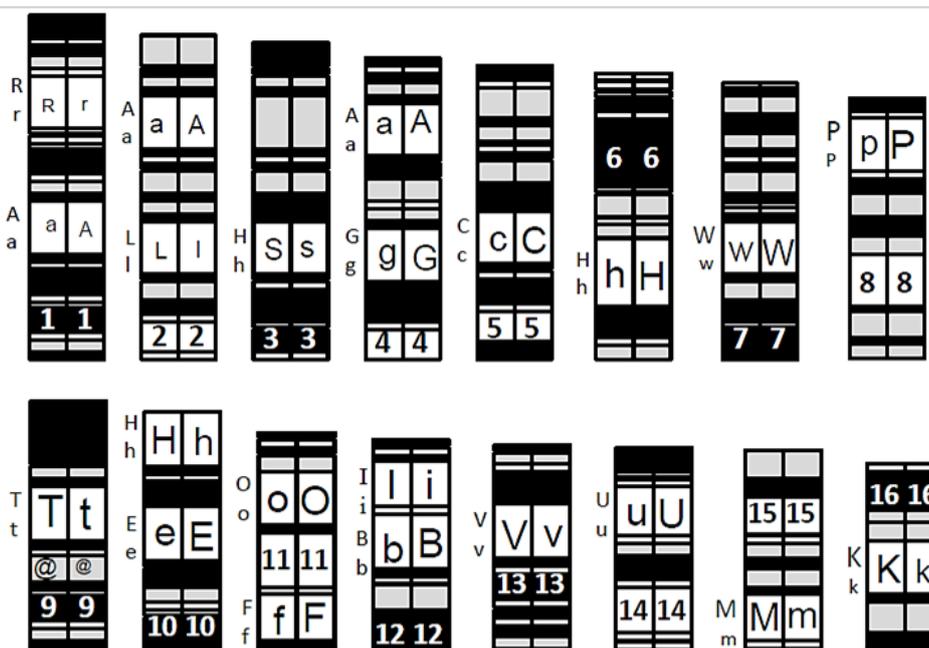
Ítem	Materiales	Característica	Cantidad
1	Fenotipo de los Progenitores		2
2	Tabla de cromosomas de los padres con su información genética		2
3	Tabla de características heredables relacionadas con la fisonomía de la cara		2
4	Cartulina		2
5	tijeras		2
6	Goma		1

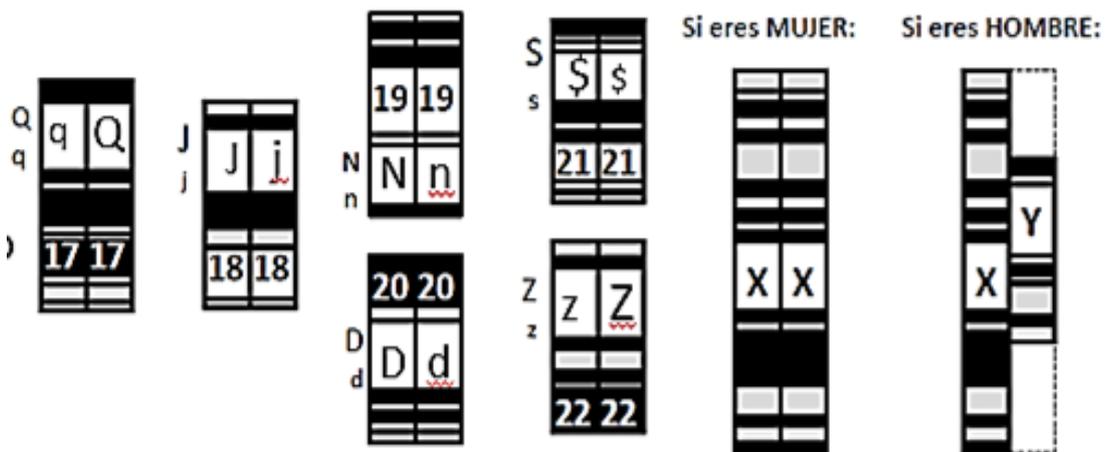
±

CARACTERES FACIALES		CROMO SOMA	TIPO DE HERENCIA	GENOTIPO		
SEXO		X, Y	Ligada al sexo	Femenino		Masculino
				XX		XY
FORMA GENERAL DE LA CARA		1	Dominancia	RR, Rr = redonda 	rr = cuadrada, alargada 	
BARBILLA	Prominencia El genotipo II evita la expresión de los otros dos genes	2	Dominancia Gen epistático	LL, Ll = muy prominente 	ll = poco prominente 	
	Se presenta epistasis: los genes S y C no se expresan en presencia del genotipo recesivo ll.	3	Dominancia Gen hipostático	SS, Ss = redondo 	ss = cuadrado 	
	Hendidura solo se expresa si la barbilla es prominente	5	Dominancia Gen hipostático	CC, Cc = presente 	cc = ausente 	
BOCA	Tamaño	17	Herencia intermedia,	QQ = grande 	Qq = mediana 	qq = pequeña 
	Espesor de los labios	18	Dominancia	JJ, Jj = gruesos 	jj = finos 	
NARIZ	Tamaño	19	Herencia intermedia	NN = grande 	Nn = mediana 	nn = pequeña 
	Forma	14	Dominancia	UU, Uu = redondeada 	uu = punteaguda 	

OREJAS	Lóbulo	22	Dominancia	ZZ, Zz = oreja con lóbulo 		zz = oreja pegada 	
	Vello en las orejas	20	Dominancia	DD, Dd = borde de la oreja con mucho vello muy rizado		dd = ausencia de vello	
CEJAS	Espesor	9	Dominancia	TT, Tt = cejas gruesas 		tt = cejas finas 	
	Emplazamiento	10	Dominancia	EE, Ee = cejas separadas 		ee = cejas juntas 	
OJOS	Separación entre los ojos	11	Herencia intermedia	OO, = juntos 	Oo= distancia media 	oo = separados 	
	Tamaño	12	Herencia intermedia	Ii = grandes 	Ii= medianos 	ii= pequeños 	
	Forma	13	dominancia	VV, Vv = almendrados 		vv = redondeados 	
	Pestañas	15	Dominancia	MM, Mm= largas 		mm = cortas 	
	color	11 y 12	Herencia intermedia	FFBB	FfBb, Ffbb, FfBB	FfBb, Ffbb	ffBB, ffBb
			Negro	Gama de marrones	Azul oscuro	Verde, azul	Azul claro

COLOR DE LA PIEL		1,2,4	Herencia intermedia Carácter poligénico	AAAAAAA; AAAAAa; AAAAaa ; AAAaaa; AAaaaa; Aaaaaa: 																		
PECAS	En las mejillas	21	Dominancia	\$\$, \$\$ = mejillas con pecas	\$\$ mejillas sin pecas																	
	En la frente	9	Dominancia	@@, @@ = pecas en la frente	@@ = sin pecas en la frente																	
HOYUELO EN LA MEJILLA		16	Dominancia	KK, Kk = con hoyuelos	kk = sin hoyuelos																	
PICO DE VIUDA		8	Dominancia	PP, Pp = con pico de viuda 	pp = sin pico																	
Pelo	Tipo	7	Herencia intermedia	WW= rizado 	Ww= ondulado 	ww = liso 																
	Rojo	4	Herencia intermedia	GG =rojo fuerte;	Gg =rojo intermedio;	gg =sin pigmento rojo																
	Color	3, 6, 10, 18	Herencia intermedia	Este carácter mezcla su efecto con otros colores de pelo. Cuanto más oscuro menos se muestra el rojo, y cuanto más claro es el otro color, más se muestra el color rojo. <table border="1" data-bbox="774 1077 1444 1279"> <tr> <td>HHHHHHHH</td> <td>HHHHHHHh</td> <td>HHHHHHhh</td> <td>HHHHHHhh</td> </tr> <tr> <td> Negro</td> <td> Negro claro o castaño muy oscuro</td> <td> Castaño oscuro</td> <td> castaño</td> </tr> <tr> <td>HHHHhhhh</td> <td>HHHHhhhh</td> <td>HhHHhhhh</td> <td>hhHHhhhh</td> </tr> <tr> <td> Castaño claro</td> <td> Castaño muy claro/rubio oscuro</td> <td> Rubio</td> <td> Rubio claro platinado</td> </tr> </table>				HHHHHHHH	HHHHHHHh	HHHHHHhh	HHHHHHhh	Negro	Negro claro o castaño muy oscuro	Castaño oscuro	castaño	HHHHhhhh	HHHHhhhh	HhHHhhhh	hhHHhhhh	Castaño claro	Castaño muy claro/rubio oscuro	Rubio
HHHHHHHH	HHHHHHHh	HHHHHHhh	HHHHHHhh																			
Negro	Negro claro o castaño muy oscuro	Castaño oscuro	castaño																			
HHHHhhhh	HHHHhhhh	HhHHhhhh	hhHHhhhh																			
Castaño claro	Castaño muy claro/rubio oscuro	Rubio	Rubio claro platinado																			

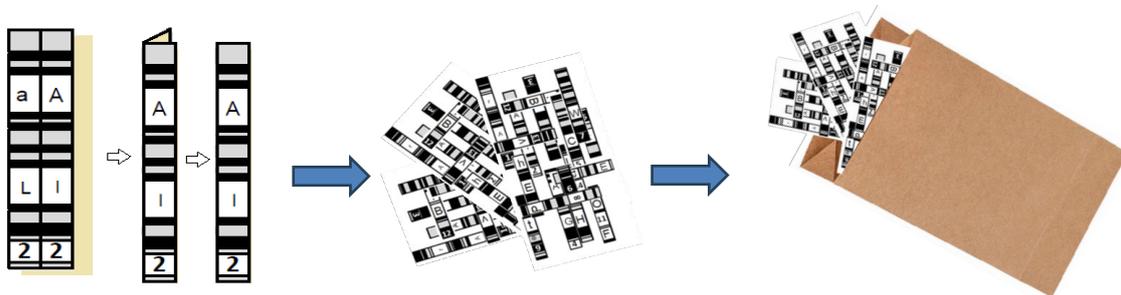




IV. Indicaciones y procedimientos

Antes del día de la práctica, imprimir dos juegos de cromosomas. Pegar los cromosomas en una cartulina delgada y recortarlos, doblarlos de tal manera que solo se vea una cromátida por cada lado y pegar. Para un juego elegir los cromosomas XX y descartar los cromosomas XY. Para el otro juego escoger los cromosomas XY y descartar los XX

Colocar cada juego en un sobre o bolsa que permita sacudir su contenido.



Nota: Fuentenpropia

Cada cara de los elementos representa a un cromosoma con una sola cromátida, por lo que podemos considerar que si solo tomamos en cuenta la cara visible del cromosoma tendremos 23

cromosomas con una sola cromátida. Esto corresponde a lo que sucede después de la meiosis cuando cada gameto tiene un solo cromosoma de cada par y este tiene una sola cromátida.

Para simular esta gametogénesis procederemos de la siguiente forma:

- Toma uno de los juegos correspondiente a uno de los progenitores colócalo en una bolsa
- Revuelve con cuidado los cromosomas dentro de la bolsa
- Vuelca el contenido en la mesa
- Anota los alelos que se ven en cada cromosoma
- Debes tener la información de 23 cromosomas
- REPITE CON EL OTRO PROGENITOR

Con cuidado de que no se den la vuelta, reúne los cromosomas de los gametos del padre y de los gametos de la madre y se constituirá el contenido cromosómico y genético del cigoto: Empareja ahora los cromosomas, desde los más grandes a los más pequeños, y los dos cromosomas sexuales. Tendrás 23 pares de cromosomas homólogos, si va a ser niña o 22 parejas de autosomas y un par XY, si va a ser un niño. Después empezará la división celular del cigoto y podrá producirse primero un embrión, luego un feto y finalmente un bebé. Anota en la tabla de la página siguiente los datos de tu supuesto bebé, coteja la información de la tabla informativa para determinar los rasgos del bebé.

V. Resultados

.....

.....

.....

.....

VI. Conclusiones

.....

.....

.....

.....

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

Semana 12: Sesión 11
Herencia de Grupos sanguíneos

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 240 minutos

Docente: Unidad: 3

Nombres y apellidos:

Instrucciones

Leer con previsión la presente Guía de práctica a fin de interpretar los procesos que se llevaran a cabo en la práctica.

I. Propósito

Al concluir la práctica el alumno es capaz de comprobar a qué grupo sanguíneo y factor Rh pertenece y explica la importancia de conocer el tipo de sangre para las transfusiones sanguíneas.

II. Fundamentos teóricos

Karl Landstener en 1901 fue el primer investigador en demostrar que para realizar una transfusión sanguínea se deben conocer las propiedades químicas de la sangre de las personas que reciben (receptor) o donan (donante) a fin de evitar la aglutinación de la sangre. Las transfusiones de sangre entre grupos incompatibles pueden provocar una reacción inmunológica que puede desembocar en hemólisis, anemia, fallo renal, shock o muerte. En los eritrocitos o glóbulos rojos, existen varios antígenos (de tipo aglutinógeno) de naturaleza polisacáridos que determinan el tipo de sangre y en el suero de las personas se encuentra un tipo de inmunoglobulina o anticuerpos aglutina). Se consideran cuatro (de tipo tipos de grupos sanguíneos A, B, AB y O los que son heredados genéticamente y constituyen el caso de polimorfismo de las poblaciones humanas mas minuciosamente estudiado. (verfigura). Grupo Sanguíneo del Sistema ABO En 1940, el Dr. Landsteiner descubrió otro grupo de antígenos que se denominaron factores Rhesus(factores Rh), porque fueron descubiertas en experimentos realizados con monos de la India Macacus rhesus. Las personas que poseern este aglutinógeno son Rh positivas (Rh+) y las que carecen de este aglutinógenos son (Rh-). Es muy importante tener en consideración este factor para evitar la eritroblastosis fetal. }

III. Equipos / Materiales

Tabla 1

Reactivo

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Solución de alcohol yodado		100ml
2	Sueros: Anti - A; Anti - B; Anti - D oRh		5

Tabla 2

Material

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Cubetas de porcelana		
2	Lanceta hematológica		
3	Algodón		
4	Plumón indeleble.		

IV. Indicaciones y procedimientos

Para la identificación de los tipos de grupos sanguíneos y el factor Rh se empleará la reacción de la aglutinación de los eritrocitos o glóbulos rojos (antígeno). Al unirse o no con los sueros anti -A, Anti - B y Anti- D o Rh (anticuerpo)

1. Rotular ceca de los pocillos de las cubetas de porcelana: Anti A, Anti B y Anti-D o Rh.
2. Desinfectar el dedo cordial (medio) con el algodón embebido con la solución de alcohol yodado, esperar que se volatilice.
3. En el lado externo del dedo, hacer una punción con firmeza y rapidez utilizando la lanceta estéril.

- 4. Dejar caer una gota de sangre sobre cada uno de los pocillos rotulados(de ser necesario presiona ligeramente el dedo, para facilitar el flujo de sangre capilar)
- 5. Agregue el reactivo específico a cada pocillo(Anti A, Anti B y Anti D ó Rh).
- 6. Observe la reacción de aglutinación (Aglomeración) o no de los eritrocitos de acuerdo al siguiente esquema de identificación e identificar el tipo de grupo sanguíneo, así como si el factor es positivo o negativo.

V. Resultados

.....

.....

.....

.....

VI. Conclusiones

.....

.....

.....

.....

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

Cuarta **Unidad**

Biotecnología y su uso en la medicina:
métodos avanzados para el estudio
celular

Semana 13: Sesión 12

Cariotipo Humano

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 240 minutos

Docente: Unidad: 4

Nombres y apellidos:

Instrucciones

Leer con previsión la presente Guía de práctica a fin de interpretar los procesos que se llevarán a cabo en la práctica.

I. Propósito

El estudiante analiza e identifica las anomalías numéricas y estructurales cromosómicas en un cariotipo humano que son causas de muchas enfermedades y síndromes congénitos.

II. Fundamentos teóricos

El nombre de cariotipo se refiere al grupo de características que permiten la identificación de un conjunto cromosómico, como número de cromosomas, tamaño relativo, posición del centrómero, largo de los brazos, constricciones secundarias, satélites, etc. Entonces el cariotipo es el ordenamiento de un conjunto de cromosomas con sus respectivos homólogos de la célula de un individuo; de acuerdo al tamaño, la posición del centrómero y su índice Centromérico. El cariotipo es característico de una especie, de un género o de grupos más amplios, y se representa por la serie ordenada de los pares homólogos de tamaño decreciente. Algunas especies pueden tener características especiales; por ejemplo, en el ratón hay cromosomas acrocéntricos; en muchos anfibios sólo se observan cromosomas metacéntricos, en plantas pueden ser los cromosomas más grandes. Por ejemplo; el cariotipo Humano normal consta de 46 cromosomas; formados por 23 pares de homólogos, 44 son somáticos y 2 sexuales, XY para el varón y XX para la mujer. El cariotipo se hace generalmente con microfotografías. Los cromosomas se recortan y se disponen con sus pares respectivos en una serie decreciente de tamaño. La técnica se facilita si se determina el llamado índice centromérico, que representa la relación entre la longitud del brazo largo y corto del cromosoma. El extendido de las células sobre el porta objetos hace que estas desplieguen todos sus cromosomas, que generalmente se estudian en la metafase. Acompañado con otras técnicas como por ejemplo la de bandeado, se ha alcanzado una mayor resolución al estudiar los cromosomas también en la profase y la prometafase. Estas anomalías pueden ser numéricas (presencia de cromosomas adicionales) o estructurales (translocaciones, inversiones a gran escala, supresiones o duplicaciones). Las anomalías numéricas, también conocidas como aneuploidía, hacen referencia a cambios en el número de cromosomas, que pueden dar lugar a enfermedades genéticas. La aneuploidía se

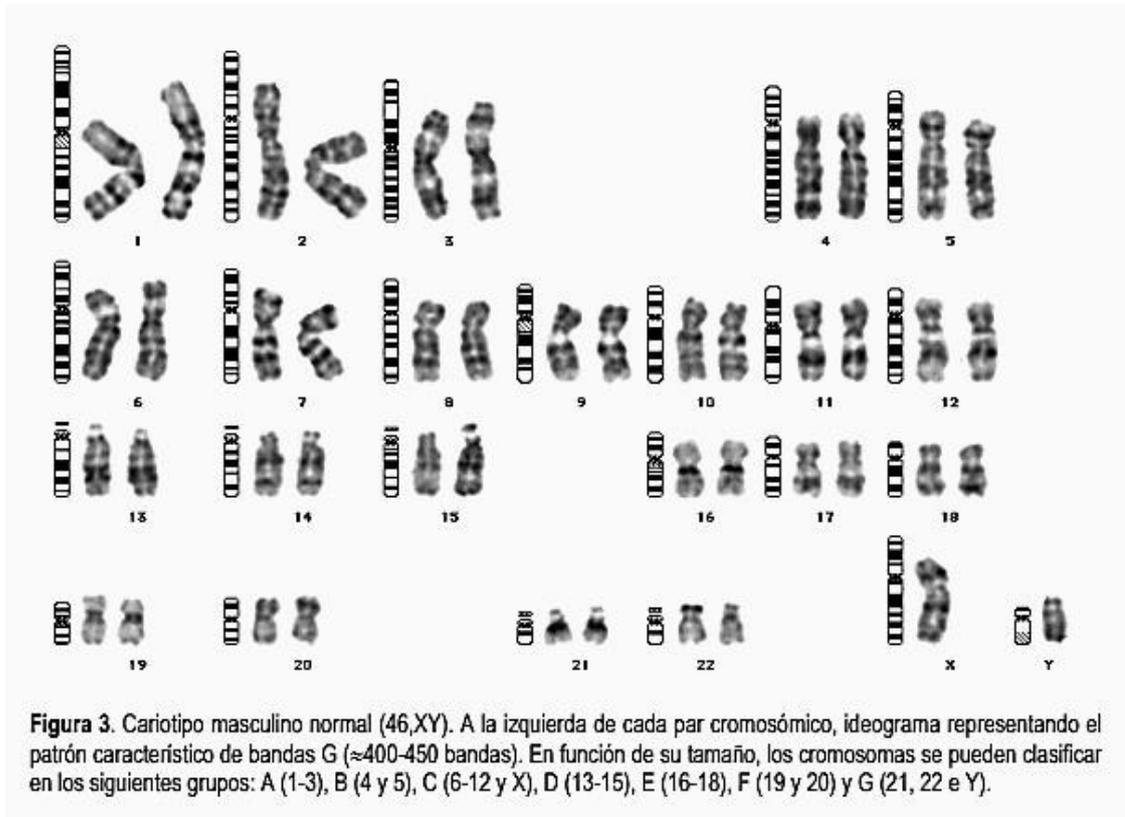
puede observar frecuentemente en células cancerosas. En los animales sólo son viables las monosomías y las trisomías, ya que las nulismías son letales en individuos diploides. Las anomalías estructurales a menudo se derivan de errores en la recombinación homóloga. Ambos tipos de anomalías pueden ocurrir en los gametos y, por tanto, estarán presentes en todas las células del cuerpo de una persona afectada, o puede ocurrir durante la mitosis y dar lugar a mosaicos genéticos individuales que tiene normal y anormal algunas células.

Anomalías cromosómicas en humanos:

- Síndrome de Turner, donde solo hay un cromosoma X (45, X o 45 X0)
- Síndrome de Klinefelter, se da en el sexo masculino, también conocido como 47 XXY, es causada por la adición de un cromosoma X.
- Síndrome de Edwards, causado por una trisomía (tres copias) del cromosoma 18
- Síndrome de Down, causado por la trisomía del cromosoma 21.
- Síndrome de Patau, causado por la trisomía del cromosoma 13.

También se detectó la existencia de la trisomía 8, 9 y 16, aunque por lo general no sobreviven después de nacer. No se han registrado casos en humanos de trisomías en el cromosoma 1, ya que todas acaban en aborto natural y no llegan a nacer. Hay algunos trastornos que se derivan de la pérdida de un solo trozo de cromosoma, entre ellas:

- Cri du Chat (maullido del gato) donde hay un brazo corto en el cromosoma 5. El nombre viene por el grito que causan los recién nacidos parecido al maullido de un gato debido a una malformación de la laringe.
- Síndrome de supresión que se da por la pérdida de una parte del brazo corto del cromosoma
- Síndrome de Angelman; Un 50% de los casos falta un segmento del brazo largo del cromosoma



Nota: Tomado de <https://genotipia.com/cariotipo/> (2018)

I II.Equipos / Materiales

Tabla 1

Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	cartulina		4
2	Hojas impresas con cromosomas		8
3	tijera		4
4	goma		4

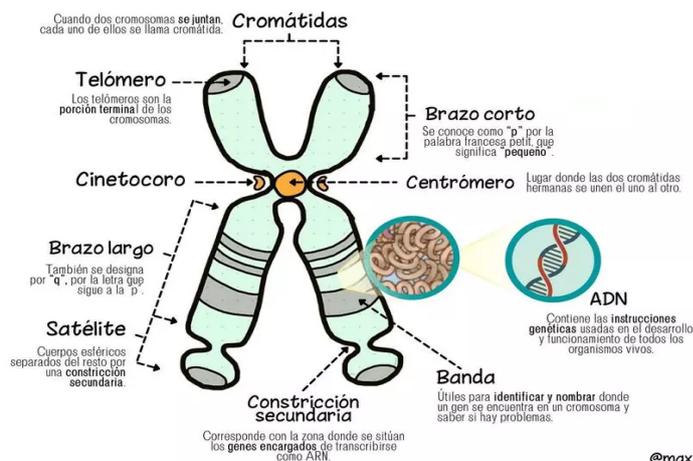
IV. Indicaciones y procedimientos

Recortar los cromosomas de la microfotografía de una célula en el estadio de metafase. 2. Identificarlos y agruparlos por pares con sus homólogos y pegarlos en orden decreciente de

acuerdo a los criterios de la tabla. 3. Orientar los cromosomas no metacéntricos con los brazos largos hacia abajo. 4. Hacer un diagnóstico del cariotipo elaborado, poner los nombres y entregar al profesor.

Grupo	Cromosomas	Tipo, según posición del centrómero	Tamaño
A	1 - 3	1 y 3 metacéntricos; 2 submetacéntrico.	Muy grandes
B	4 - 5	Submetacéntricos.	Grandes
C	6 - 12, X	Submetacéntricos.	Medianos
D	13 - 15	Acrocéntricos con satélites.	Medianos
E	16 - 18	Metacéntrico el 16 y submetacéntricos 17 y 18.	Pequeños
F	19 - 20	Metacéntricos.	Pequeños
G	21 - 22, Y	Acrocéntricos, (21 y 22 con satélites).	Muy pequeños

Nota: Tomado de <https://www.ege.fcen.uba.ar/wp-content/uploads/2019/05/Guia-1erTP-Citogen-%C2%AEtica-1C2019.pdf> (2018)



Nota: Tomado de <https://genotipia.com/cariotipo/> (2018)

46 , XX	♀ normal
46 , XY	♂ normal
45 , X0	Síndrome de Turner
47 , XXY	Síndrome de Klinefelter
47 , XX , +21	Síndrome de Down
46 , XX / 47 , XX , +21	Mosaico (Síndrome de Down)
46 , XX , 5p-	Síndrome Cri-du-chat
47 , XY , +13	Síndrome de Patau
47 , XY , +18	Síndrome de Edwards
46, XY, -13, +T (13q . 21q)	Translocación (Síndrome Down)

V. Resultados

.....

.....

.....

.....

VI. Conclusiones

.....

.....

.....

.....

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

Semana 14: Sesión 13

Exposición 1 , métodos moleculares aplicados al diagnóstico clínico: Maldi TOF, PCR (tipos).

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 240 minutos

Docente: Unidad: 4

Nombres y apellidos:

Instrucciones

El grupo asignado explicará el procedimiento, fundamento y aplicación de la técnica asignada por sorteo.

I. Propósito

Entender la importancia de las técnicas moleculares en el diagnóstico de distintas enfermedades.

II. Fundamentos teóricos

El concepto de "diagnóstico molecular" es un término amplio que incluye técnicas de biología molecular en beneficio de la salud humana, detectando y/o cuantificando secuencias genéticas específicas de ácido desoxirribonucleico (ADN), ácido ribonucleico (ARN) o proteínas. Inicialmente, el concepto de "Biología Molecular" se aplicó a los trabajos realizados sobre el ADN y se consideraba materia solo académica y de investigación.

En la actualidad se cuentan con diferentes kit para diferentes aplicaciones con diferente grado de automatización. Muchas de estas tecnologías no están disponibles en la región. Varias relacionadas con casas farmacéuticas

III. Equipos / Materiales

Uso de PPT, maquetas o dramatizaciones con que el grupo pueda explicar el fundamento, procedimiento y aplicación de la técnica asignada.

IV. Indicaciones y procedimientos

El grupo tendrá un máximo de 40 minutos para exponer el tema asignado, luego de esto se realizarán preguntas por parte del docente y sus compañeros.

V. Resultados

.....
.....

.....
.....

VI. Conclusiones

.....
.....
.....
.....

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....
.....
.....
.....

Semana 15: Sesión 14

Exposición 2 , métodos moleculares aplicados al diagnóstico clínico: FISH, MICROARRAY

Sección: Fecha:/...../..... Duración: 240 minutos

Docente: Unidad: 4

Nombres y apellidos:

Instrucciones

El grupo asignado explicará el procedimiento, fundamento y aplicación de la técnica asignada por sorteo.

I. Propósito

Entender la importancia de las técnicas moleculares en el diagnóstico de distintas enfermedades.

II. Fundamentos teóricos

El concepto de "diagnóstico molecular" es un término amplio que incluye técnicas de biología molecular en beneficio de la salud humana, detectando y/o cuantificando secuencias genéticas específicas de ácido desoxirribonucleico (ADN), ácido ribonucleico (ARN) o proteínas. Inicialmente, el concepto de "Biología Molecular" se aplicó a los trabajos realizados sobre el ADN y se consideraba materia solo académica y de investigación.

En la actualidad se cuentan con diferentes kit para diferentes aplicaciones con diferente grado de automatización. Muchas de estas tecnologías no están disponibles en la región. Varias relacionadas con casas farmacéuticas

III. Equipos / Materiales

Uso de PPT, maquetas o dramatizaciones con que el grupo pueda explicar el fundamento, procedimiento y aplicación de la técnica asignada.

IV. Indicaciones y procedimientos

El grupo tendrá un máximo de 40 minutos para exponer el tema asignado, luego de esto se realizarán preguntas por parte del docente y sus compañeros.

V. Resultados

.....

.....

.....

.....

VI. Conclusiones

.....

.....

.....

.....

VII. Sugerencias / recomendaciones

.....

.....

.....

.....

REFERENCIAS

- Karp, G., Marshall, W., Iwasa, J. (2019). Biología celular y molecular: Conceptos y experimentos. España: McGraw-Hill. <https://continental.elogim.com/auth-meta/login.php?url=https://ebookcentral.continental.elogim.com/lib/unicont/detail.action?docID=5758841>
- Alberts, B., Hopkin, J., Lewis, R. y Roberts, W. (2011). Introducción a la Biología Molecular (3 ed.). México D.F., México: Panamericana.
- De Robertis, E. (2012). Biología celular y molecular. 16ª ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial El Ateneo.
- Salazar, A., Sandoval, A. y Armendáriz, J. (2013) Biología Molecular, fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud. México D.F., México: McGraw Hill.
- Audesirk, T., Audesirk, G. y Byers, B. (2012). Biología de Vida en la Tierra (9 ed.). México D.F., México: Pearson Educación.
- Berg, S. (2013). Biología. México D.F., México: Cengage
- Nuffield Council on Bioethics Genome Editing and Human Reproduction: social and ethical issues (London: Nuffield Council on Bioethics). 2018 <https://www.nuffieldbioethics.org/assets/pdfs/Genome-editing-and-human-reproduction-report.pdf>
- Galarza M., Guio H., Reques J., Piscoya O., Rodríguez M. (2018) Diagnóstico molecular de tuberculosis multidrogorresistente en muestras de esputo mediante el análisis de curvas de melting. Rev. perú. med. exp. salud pública [Internet]. 2018 Jul [citado 2020 Mar 08]; 35(3): 433-440. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342018000300009&lng=es. <http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2018.353.3402>
- Ramakrishna^{1*}, P. B. Janardhan¹ and L. Sudarsanareddy. (2011) Células madre y medicina regenerativa: una revisión. Annual Review & Research in Biology 1(4): 79-110, Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/222277556_Stem_Cells_and_Regenerative_Medicine_-_A_Review [consultado el 09 de marzo de 2020].
- Universidad Complutense de Madrid. (2019). Regulación de la expresión génica en procariontes <https://www.ucm.es/data/cont/media/www/pag-56185/23-Regulaci%C3%B3n%20de%20la%20expresi%C3%B3n%20g%C3%A9nica%20en%20procariotes.pdf>

Recursos digitales

- http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/52695/Documento_completo.pdf?sequence=3&isAllowed=y
- http://www.medic.ula.ve/histologia/anexos/microscopweb/MONOWEB/capitulo4_3.htm
<https://microscopioelectronico.com/partes-del-microscopio-optico/>