

# Módulo ADN, Diversidad y Herencia



## Presentación

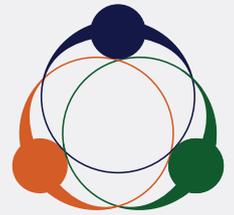
Este módulo pertenece al proyecto Imagine, de la Universidade Federal de Santa Catarina, que constituye un proyecto de solidaridad internacional y que busca la inclusión científica y el intercambio cultural entre los pueblos. Con este, se busca discutir sobre la diversidad y variabilidad biológica entre los seres vivos, sobre sus semejanzas y diferencias, así como entre los seres humanos, que naturalmente varían tanto “dentro” como “entre” los diferentes pueblos y etnias.

La comprensión de esta temática, de gran complejidad, demanda un conjunto de actividades y discusiones, que van desde debates con los participantes de grupos, presentación de videos, clases explicativas, prácticas hasta vivencias diversificadas, los cuales culminan con el estudio molecular del ADN y su implicancia en la diversidad y en la herencia.

Sin embargo, para alcanzar este universo microscópico y molecular, fué establecida una estrategia que va desde la observación macroscópica hasta una interpretación del universo molecular.

Los conceptos de diversidad y variabilidad pueden ser trabajados por medio de colectas y clasificación de materiales, como partes de plantas, animales, etc. Cabe resaltar que los criterios establecidos, muchas veces dependen de la medición de ejemplares, por eso, mediciones con instrumentos variados son herramientas importantes para ser utilizadas. El conjunto de estas actividades pretende llevar a los participantes a que entiendan que cualquier tipo de clasificación es subjetiva.

# Módulo ADN, Diversidad y Herencia



No obstante, ni todas las características posibles de ser utilizadas como criterios de agrupamiento pueden ser observados a simple vista, debido a que nuestro universo va de lo macro a lo microscópico. Las prácticas experimentales más elaboradas pueden auxiliar en el reconocimiento de estas características, como la cromatografía en papel o, también la extracción de ADN de diferentes especies (visible a simple vista como un agregado de moléculas).

Cabe recordar que, a pesar de poder observar un aglomerado de moléculas de ADN, no es posible comprender fácilmente los procesos que regulan la producción de moléculas que, por medio de diversas interacciones, participan de la constitución de las características de los seres vivos. Las prácticas simples, como el uso de piezas de montar, pueden ayudar en el entendimiento de como ocurren estos mecanismos. Por otra parte, estas prácticas estimulan la discusión acerca del código genético, en relación a su organización y la manera en que es descifrado por las células.

Finalmente, el trabajo con técnicas más complejas, que demandan herramientas tecnológicas específicas, permite la identificación del material genético en mayor detalle, inclusive con la posibilidad de compararlo intra e interespecificamente.

# Colecta y Clasificación de Materiales



## Objetivo General

Comprender los sistemas de clasificación.

## Objetivos Específicos

- 1) Discutir el concepto de criterio.
- 2) Establecer criterios de clasificación y aplicarlos en materiales obtenidos en colectas.
- 3) Concluir qué criterios de clasificación son subjetivos.

### 1

## Recolectando el material

- Establecer dos a tres lugares, en diferentes ambientes de los alrededores de la propia comunidad donde viven, trabajan o estudian los participantes, para ser utilizados como puntos de colecta de los ítems de material biológico y/o no biológico (por ejemplo, hojas, flores, frutos, piedras, basura, etc.);
- Dividir los participantes en 3 a 4 grupos;
- Cada grupo deberá recolectar entre 5 a 10 unidades diferentes de cada uno de los ítems previamente determinados. El número de ítems dependerá de la cantidad de grupos formados, por ejemplo, para 4 grupos colectar: 1) piedras, 2) hojas, 3) flores, 4) basura;
- Solicitar que cada grupo se dirija a uno de los lugares determinados para realizar las colectas;
- Se sugiere que el tiempo de colecta sea de entre 15 a 30 minutos.

### Ampliando la Discusión!

En este momento, Usted podrá solicitar a los participantes que describan el ambiente de las colectas con el objetivo de discutir sobre especies nativas, exóticas, acción antrópica, condiciones climáticas, el relieve del suelo, etc.

## 2

### Clasificando el material recolectado

- Reunir, en un ambiente adecuado, los materiales colectados, agrupándolos por ítem. Por ejemplo, juntar todas las hojas recolectadas por los diferentes grupos en un único conjunto, conforme la figura 1;



Ítems sin separación por criterio de clasificación.

- Discutir el concepto de criterio y solicitar a los participantes que den ejemplos (considerando la existencia de una actividad específica con agrupamientos humanos, se sugiere que no sean utilizados ejemplos involucrando sus características en este momento); .
- Definir solamente un ítem (Ej.: hojas para el grupo 1 y flores para el grupo 2, etc.) para ser trabajado inicialmente en cada grupo;
- Solicitar a los grupos que organicen su material de acuerdo con diferentes criterios preestablecidos por ellos mismos (Ver ejemplos en la Figura 2). Anotar los criterios utilizados;



Ítems separados por diferentes criterios de clasificación.

**sugerencia:** Para un desarrollo de la clase más interesante, es importante que los participantes no reciban consejos de posibles criterios, pero que si sean estimulados a establecerlos en un mayor número posible.

- De ser posible, fotografiar los conjuntos contruidos por los participantes para una presentación posterior en equipamientos de multimedia;
- Solicitar a los grupos que elijan uno de los patrones producidos para desafiar otro grupo a descubrir cuál fue el criterio utilizado;
- Rotar los grupos, para definir clasificaciones de acuerdo con nuevos criterios. Cada grupo pasara por todos los ítems colectados, debiendo anotar sus criterios. De ser posible, también fotografiar el resultado.

### 3

#### **Discutiendo la importancia de la clasificación:**

- Discutir los resultados sobre los diferentes arreglos realizados por los grupos, si es posible, proyectar las figuras en un equipamiento de multimedia;
- Destacar el número ilimitado de posibles combinaciones en función de los diferentes criterios;
- Discutir la importancia de clasificar, especialmente en el contexto biológico;
- Concluir la discusión, resaltando la subjetividad de los criterios de clasificación, ya que diferentes puntos de vista sobre un mismo conjunto de objetos pueden llevar a diferentes agrupamientos.

# Los Tipos Humanos: la Cultura y la Geografía



## Objetivo General

Discutir críticamente el concepto de razas humanas.

## Objetivos Específicos

- Identificar los tipos de humanos, correlacionando sus características físicas y su indumentaria con sus supuestos orígenes geográficos;
- Percibir cómo la cultura del observador puede influenciar en la distribución de los tipos humanos;
- Concluir que criterios de clasificación de los tipos humanos son flexibles y subjetivos;

## Material Necesario

- Mapamundi (Entre aquí);

Se sugiere la proyección a través de multimedia, fijando las tarjetas con los diferentes tipos directamente en la pantalla de proyección o pared.

- Doce tarjetas de tipos humanos (Entre aquí);

Imprima el número de copias coloridas que crea conveniente, en función del número de grupos que serán formados. Para una mejor conservación del material, se sugiere que el mismo sea plastificado.

- Un modelo para aplicadores (Entre aquí).

## Clasificando el grupo de participantes

- Solicitar que el grupo establezca criterios de clasificación entre los participantes (Por ejemplo: sexo, tipo vestimenta, altura y otras características observables externamente o, aquellas que no están explícitas y que permitan hacer grupos distintos, como descendencia, provincia o ciudad de nacimiento, grupo de edad, etc.). Es importante que los participantes elijan los criterios.

- Solicitar que los participantes propongan la reorganización de los grupos de acuerdo con otros criterios.
- Observar y comentar que, las personas pueden estar juntas de acuerdo con un criterio, pero separadas en función de otro, cuando cambia el parámetro de semejanza. Discutir que los criterios dependen de consensos entre los participantes, ya que las características como por ejemplo, la edad o la altura, están sujetas a la definición de los límites entre un rango y otro

### ¡Ampliando la discusión!

Es importante percibir que esta discusión puede avanzar con la solicitud de que los subgrupos sean reorganizados por medio de la introducción de más de un criterio. Por ejemplo, si el criterio fue el color de la vestimenta (oscuro y claro), que los de ropas claras u oscuras sean separados por colores más específicos, generando nuevas subdivisiones.

## 2

### Localizando los tipos humanos geográficamente

- Formar dos o más grupos de participantes.
- Entregar las imágenes de los tipos. Seleccione, conforme la disponibilidad de tiempo para la ejecución de la actividad, el número de tipos que crea conveniente (Por ejemplo, cinco, seis, diez, etc.)
- Entregar un conjunto idéntico de tarjetas seleccionadas para cada grupo, juntamente con la copia en papel A4 del mapa para que sirva de modelo de la distribución.
- A partir del análisis de las características posibles de ser observadas en las imágenes, los grupos deberán determinar y marcar en el mapa del papel la región que suponen ser el origen de cada una de ellas.

## ¡Ampliando la discusión!

En este momento, Usted podrá estimular a los grupos a buscar (en un atlas, o globo terráqueo, o en una página de internet) la localización de los países elegidos, aprovechando la actividad para trabajar la geografía como tema transversal

- Solicitar que cada uno de los grupos entregue su planilla y presente, pegando en el mapamundi proyectado, su idea sobre el origen de los tipos humanos elegidos.
- Discutir las semejanzas y diferencias entre las distribuciones, solicitando que los grupos detallen cual/es criterios determinaron su elección. Reflexionar sobre cómo cualquier tentativa de agrupamiento de los tipos humanos no es simple, debido a que los criterios no son rígidos ni absolutos.
- En caso de que crea pertinente, informe a los grupos el real origen de los tipos que ellos trabajaron

### ¡Atención!

En este caso, el objetivo no debe ser el de establecer lo correcto o incorrecto, pero si mostrar que, cada vez más los pueblos ocupan diferentes regiones del mundo, motivados por diferentes intereses de flujos migratorios.

## ¡Ampliando la discusión!

En este momento, Usted podrá estimular a los grupos a discutir acerca de los aspectos históricos, culturales, económicos, políticos que llevan a estos flujos migratorios.

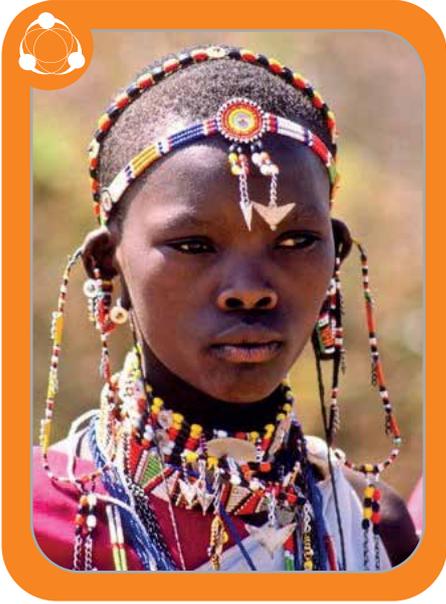
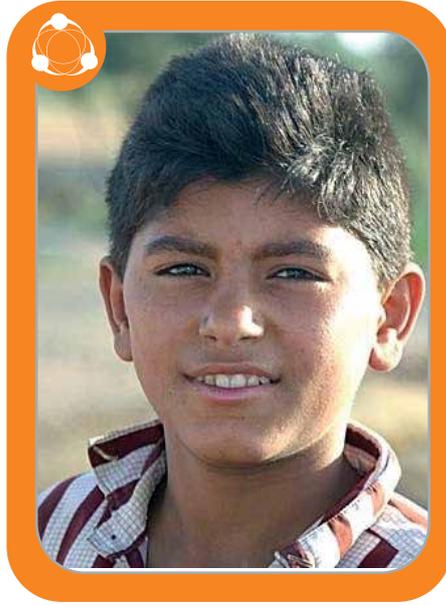
## Mapa Mundi

Para descargarlo en tamaño completo, haga click [aquí](#)



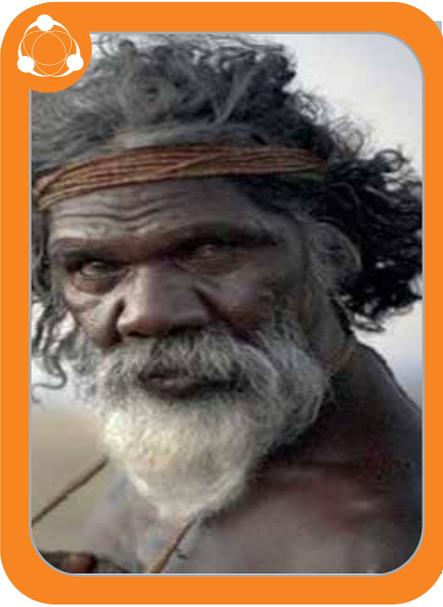
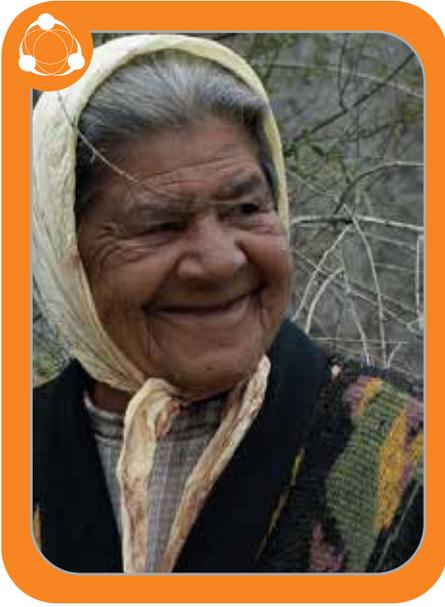
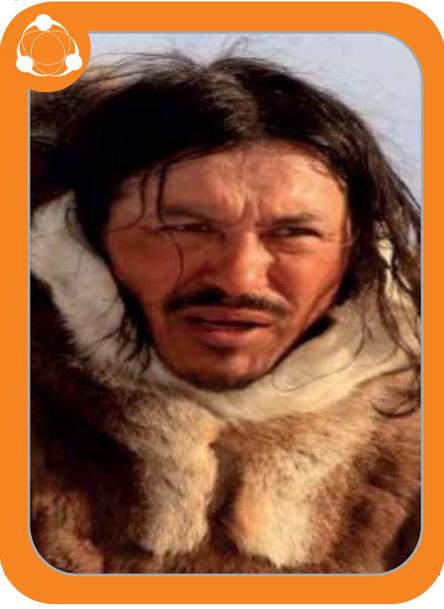
# IMAGINE: O MUNDO

Este es el Mundo en el que vivimos. ¿Sabes de donde son los diferentes pueblos?



# Personas del Mundo

Plastifique los cartones, y localícelos en el mapa.



# Personas del Mundo

Plastifique los cartones, y localícelos en el mapa.

# Modelo

(Solamente para aplicadores)



**Africa**  
• Maasai - Quênia



**Africa**  
• Egipto



**América del Norte**  
• Méjico



**Oceanía**  
• Aborígen australiano



**América del Sul**  
• Bolivia



**Asia**  
• Bangladesh



**Asia**  
• India



**América del Sul**  
• Santa Catarina - Brasil



**América del Norte**  
• Inuit de Canadá



**Europa**  
• Bavaria, Alemania



**América del Sul**  
• Mata Atlántica - São Paulo - Brasil



**América del Norte**  
• Indígena Chippewa

Material producido por el Proyecto Imagine. UFSC, febrero de 2015

# Mediciones con instrumentos



## Objetivo general

Cuantificar materiales biológicos, utilizando instrumentos diversos, permitiendo la percepción de la utilidad de la precisión en las medidas.

## Objetivos específicos

- 1) Reconocer y valorizar los modos de medición cotidianos, regionales y/o oficiales;
- 2) Aprender a utilizar instrumentos diversos de medidas: lineares, de área y de peso;
- 3) Comparar mediciones hechas con y sin instrumentos;
- 4) Establecer relaciones entre los niveles macro y microscópico;

## Material Necesario

- |   |   |                                   |
|---|---|-----------------------------------|
| Hojas de plantas, de tamaño y forma semejante (4 unidades por subgrupo);  | 2 | Papel milimetrado;                |
| 1 Reglas de 10 o 15 cm (una unidad por subgrupo), si es posible utilizar reglas con escala también en pulgadas; | 3 | Calibre Vernier (de ser posible); |
|   | 4 | Balanza (de ser posible);         |
|   | 5 | Lupa (si es posible)              |



Se sugiere la utilización de hojas para esta práctica debido a la facilidad de obtención de este material biológico en la mayoría de las zonas rurales. En regiones desérticas se puede utilizar semillas, huesos o piedras.

## 1 Observando el Material Biológico

- Formar subgrupos de cuatro a cinco participantes.
- Disponibilizar instrumentos de medida (regla, calibre vernier y/o balanza) y pedir que midan cuatro hojas para al final responder la siguiente pregunta: ¿Cuál es la medida de la hoja?
- Establecer un criterio inicial para cada subgrupo y solicitar que los participantes midan las cuatro hojas. Si hay más tiempo, el subgrupo podrá medir más variables.

En este momento surgirán dudas sobre cual medida tomar, longitud o anchura, área total, peso, si el subgrupo debe medir una o las cuatro hojas. La necesidad de establecer un criterio posiblemente sea natural entre los participantes.

## 2

### Actividad introductoria opcional

Regla con escalas en centímetros y pulgadas



Con el papel cuadriculado, dibuja el contorno de una hoja, usando el lápiz, bolígrafo, etc.

Con el dibujo obtenido, es posible calcular el área de esa hoja

- Proyectar una figura con cuatro hojas, para todo el grupo y solicitar que, individualmente describan el material;
- En seguida, ofrecer una lupa a cada subgrupo y pedir que anoten las nuevas observaciones. La idea es que perciban que, refinando el instrumento de análisis, ellos pueden ver cosas que no veían antes, como por ejemplo: poros, pelos, detalles de los nervios o aserrado de los bordes (o ver lo que antes había sido clasificado como borde liso, y ahora presenta un patrón aserrado en esta forma de observación);
- Discutir que cada descripción es subjetiva, o sea, que tiene la visión de quien lo describe y depende del instrumento utilizado.

## 3

### Discutiendo la importancia de las medidas precisas



Medición con el calibre vernier



Ejemplo pesa la hoja, utilizando una escala

- Discutir los resultados con cada subgrupo, percibiendo que cada hoja tiene su medida, pero que necesitamos informar un valor único y representativo del grupo mayor;
- Calcular la media de los valores medidos y pedir que un alumno del subgrupo diga su resultado al grupo más grande;
- Discutir cuales son las razones que pueden haber llevado a que los valores sean diferentes (formación de hipótesis) entre los resultados de los subgrupos.

### ¡Ampliando la discusión!

De ser posible, sacar una foto con el conjunto de hojas que serán dadas a cada subgrupo. Cada grupo deberá recibir un conjunto de cuatro hojas, de tamaño, color, edad, semejantes (por ejemplo, un subgrupo con hojas nuevas, otro con hojas viejas, otro con hojas recién caídas de la planta y otro con hojas secas). La actividad realizada de esta manera podrá estimular la creación y la discusión de hipótesis.



Es interesante usar una lupa, para percibir los detalles del objeto estudiado.

# Revelando características escondidas



## Objetivo General

Utilizar técnicas que permitan observar que las características visibles de los seres vivos son un producto de interacciones físicas, químicas y biológicas.

## Objetivos Específicos

- 1) Que los participantes se familiaricen con la técnica de cromatografía en papel
- 2) Comparar las observaciones hechas a simple vista con los resultados obtenidos de la técnica de cromatografía.
- 3) Establecer relaciones entre los niveles macro y microscópicos.
- 4) Extrapolar los resultados obtenidos con ojos de *Drosophila* a características de otros organismos.

*Líneas de mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) con color de ojo diferentes:*

A - salvaje, B- sepia, C- white, D- brown



## Material Necesario

Lupa estereoscópica o de mano  
Pinceles nº 0  
Tijeras  
Clips grandes



Agujas histológicas o pinzas de relojero  
Papel Filtro  
Luz UV  
Transiluminador de mesa o de mano

Frascos con tapa de polietileno, o equivalente, de aproximadamente 250 mL, para colocar el solvente



Eterizador

Eterizador Aberto



Eterizador Fechado

Probeta



# 1 Preparando la solución

Para un volumen final de 30 ml de solución es necesario:

## Solución 1

- 16 mL de n-propanol
- 3 mL de hidróxido de amoníaco
- 11 mL de agua destilada



## Solución 2

- 20 mL de alcohol etílico;
- 3 mL de ácido acético;
- 7 mL de agua destilada;

**Observación:** las dos soluciones producen el mismo resultado

# 2 Observando el material biológico



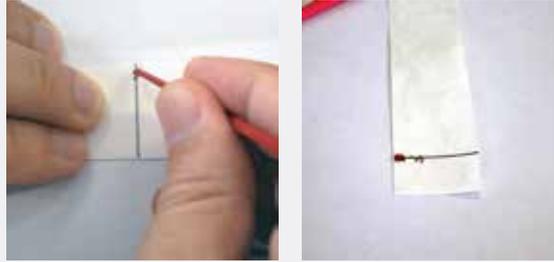
- Observe en la lupa estereoscópica o de mano ejemplares de moscas con colores de ojo diferentes, que serán utilizados en la actividad (Figura 2).
- Corte un tira de papel filtro (2,5 cm de ancho x 10 cm de largo) y dibuje una línea con lápiz (a 1,5 cm de una de las bases) para indicar dónde será el lugar de aplicación de las muestras (Figura 3)
- Perfore la tapa de polietileno con un clip



- Separe y eterice 5 individuos de cada color de ojos.
- Coloque cinco moscas muertas de un color de ojo en un trozo de cartulina blanca y con ayuda de agujas histológicas y/pinzas de relojero, remueva las cabezas.
- Con ayuda de una aguja histológica o con la pinza de relojero, separe las cabezas del resto del cuerpo;

- Con la punta del pincel aplaste las cinco cabezas del mismo color, una por vez, sobre un mismo punto en la línea dibujada en la tira de papel

Extracción del pigmento de las cabezas de drosófilas.



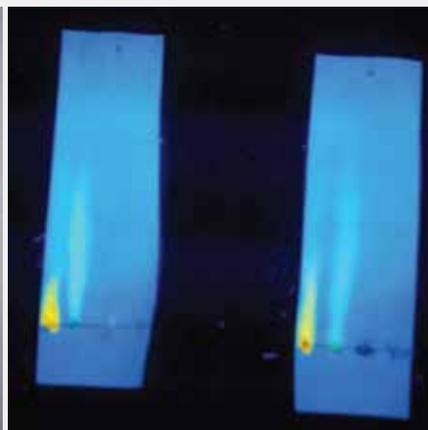
- Realice el mismo procedimiento con las cabezas de los otros colores de ojos, teniendo cuidado de que los puntos de aplicación no queden muy próximos entre sí, para evitar contaminación entre las muestras. Anote el orden de aplicación de los colores de ojos para luego realizar la interpretación de la migración de las muestras
- Prepare un de las soluciones para migración, de acuerdo con las cantidades descritas. Colóquela en un frasco con tapa de polietileno o equivalente. Mantenga cerrado el frasco que contiene la solución para evitar evaporación y alteración de las cantidades de los reactivos.
- En el clip que se encuentra en la tapa, cuelgue el papel filtro que contiene las cabezas ya aplastadas y tape el frasco, de forma que la solución entre en contacto con el borde del papel, teniendo cuidado de no tocar los puntos de aplicación
- Deje absorbiendo por 2 horas, o hasta que la marca de humedad llegue al borde superior del papel. Luego retire el papel y déjelo secar (a temperatura ambiente)
- Una vez seco, observe el resultado a simple vista, e posteriormente, coloque el papel filtro a la luz UV. Compare los resultados de las dos observaciones realizadas



Pigmentos en el papel filtro expuestos a la luz común



Pigmentos en el papel filtro expuestos a la luz ultravioleta



### 3

## Discutiendo los resultados de la cromatografía

- Pida a los participantes que describan y que sugieran interpretaciones para los resultados encontrados a simple vista y bajo luz UV;
- Resalte que la técnica utilizada revelará patrones cromatográficos diferentes para cada línea;
- Discutan los motivos de los diferentes patrones observados
- Extrapole los resultados encontrado para otras características en otros seres vivos.

# Escalas de la vida



## Objetivo General

Comprender diferentes escalas de tamaño, desde metros hasta nanómetros.

## Objetivos Específicos

- Relacionar diferentes unidades de medida, partiendo de objetos de nuestro día a día que son posibles de observar a simple vista, hasta llegar a un nivel intracelular.
- Demostrar a través de una herramienta visual e interactiva cuan pequeñas son nuestras células y nuestro material genético.

Entre aquí.



# El ADN a simple vista



## Objetivo General

Obtener y visualizar el ADN vegetal a través de un protocolo simple.

## Objetivos Específicos

- 1) Hacer una transición entre las cosas visibles y las invisibles a simple vista.
- 2) Introducir a los participantes en la biología molecular.
- 3) Demostrar que podemos extraer material genético de los seres vivos.

## Material Necesario

1 bolsa plástico  
preferentemente con un sistema de  
cierre (por ej: ziplock)

3 frutillas  
con las debidas adaptaciones, se  
puede realizar con otra planta( como  
banana, kiwi, cebolla o tomate, etc.)

1 colador de cocina

15 ml de alcohol  
etílico común helado

1 vaso de 200ml

Detergente de  
cocina incoloro

Sal común

1 palillo de vidrio

1 probeta de 25ml

1 becker de 500 mL

1 par de guantes de látex  
por persona

1 cuchara sopera

1 cuchara de té

Preferentemente, los participantes usarán guardapolvos, que pueden ser descartables.

## 1 Discutiendo el DNA

Discutir con los participantes el concepto de herencia de características en plantas, animales y seres humanos. Pedir que ellos describan como la herencia es vista e interpretada en su cultura y lo que ellos saben sobre el material genético. En caso de que ellos no mencionen el termino ADN, conducir la discusión hasta que se llegue a él.

### ¡Ampliando la discusión!

En este momento, Usted puede pedir que los participantes citen ejemplos de herencia biológica en la agricultura practicada en su región y que expliquen cómo los agricultores locales interpretan y aprovechan esta herencia.

## 2

### Preparando el tejido vegetal para la extracción

- Formar grupos de cuatro o cinco participantes
- Dos o tres personas del grupo serán responsables de preparar la solución de extracción: en un vaso mezclar 150 ml de agua, una cucharada (sopa) de detergente y una cucharadita (té) de sal, mezclar con el palillo de vidrio intentando no hacer espuma.
- Seleccionar las frutillas y retirar las hojas. Colocar las frutillas en una bolsa y pedir para los otros miembros que maceren con las manos, aplastando hasta formar una pasta.



## 3

### Extrayendo el ADN

- Adicionar aproximadamente 1/3 de la solución de extracción (50 ml) en la bolsa plástica que contiene la pasta y dejar actuar por 30 minutos. Girar la bolsa de vez en cuando intentando no formar espuma.



### Sugerencia de actividad

En este momento, mientras espera, puede pedir a los participantes que intenten adivinar de qué color será el ADN de frutilla. Después de registrar las opiniones, preguntar de qué color sería el ADN de otros organismos. ¿Será que todos los organismos tienen el mismo ADN?

- Con la ayuda del colador, filtrar el contenido de la bolsa de plástico en un vaso de precipitado, descartando la pulpa.
- Transferir para una probeta de 25 ml cerca de 10 ml del líquido filtrado.



Transferir el líquido en una probeta

### Sugerencia de actividad

En este momento, avisar que ellos están a punto de ver el ADN dentro de la probeta. Ellos deben estar muy atentos para observar lo que irá ocurrir en el próximo paso, ya que la apariencia de lo que se ve muda muy rápidamente.

- Adicionar alcohol helado hasta completar 20 a 25 ml. Sin agitar, esperar unos minutos hasta que el ADN gradualmente aparezca en forma de nube y se condense en forma de un material viscoso.
- Intentar “pesar” el ADN con la ayuda del palillo de vidrio.

ADN apareciendo en el alcohol



“Pescando” el ADN dentro de la probeta



- Discutir los resultados en función de las expectativas. Conversar sobre lo que representa este agregado de ADN. Pregunte si podríamos comer este material y que acontecería si hiciéramos eso.

Comentario para el profesor: el método utilizado también extrae otras moléculas semejantes, como diferentes tipos de ARN.

# El universo de los microlitros



## Objetivo General

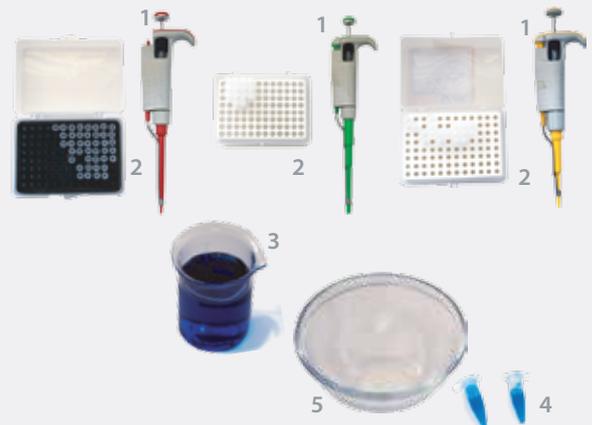
Comprender y manipular volúmenes líquidos muy pequeños en situaciones de laboratorio.

## Objetivos Específicos

- 1) Discutir sobre las diversas unidades de medida del sistema métrico.
- 2) Introducir el universo de los microlitros
- 3) Aprender a utilizar micropipetas automáticas de forma precisa y segura.

## Material Necesario

- 1 Micropipetas automáticas de varios tamaños y capacidades (Ejemplo: P10, P100 y P1000)
- 2 Punteras descartables de tamaños compatibles con las pipetas
- 3 Vaso de precipitado con agua u otro líquido
- 4 Tubos plásticos (Ejemplo: microtubos de 1.5 ml)
- 5 Recipiente para descartador



Presentamos, en esta guía, una sugerencia de materiales, que pueden ser substituidos o adaptados. Micropipetas, punteras y tubos viejos o usados pueden ser prestados por laboratorios de análisis clínicas o universidades colaboradoras.

1

### Discutiendo las unidades de medida

Discutir las principales grandezas físicas y sus unidades, como longitud, masa y volumen, preguntando a los participantes cómo ellos miden estas cosas y que nombres y símbolos acostumbran utilizar. Pedir ejemplos de medidas de volumen utilizadas en el contexto de la comunidad local (Ejemplo: litro de leche, combustible, agua).

2

### Trasladar la discusión para volúmenes muy pequeños

Pedir a los participantes que sugieran formas de coleccionar, medir y transferir volúmenes cada vez menores hasta llegar a los microlitros.

### 3

## Presentando la micropipeta y sus punteras

- Elegir una pipeta con volúmenes entre 200 a 1000 ml (dependiendo de las pipetas disponibles) y mostrar las partes de ella.
- Mostrar el visor y el botón de regulación de la escala de medición, explicando el significado de los dos dígitos.



- Demostrar que la pipeta presenta 2 toques de resistencia:  
1º Estadio será utilizado para succionar el líquido para la puntera;  
2º Estadio será utilizado para expulsar el líquido que está en la puntera;
- Demostrar cómo se coloca una puntera en la pipeta. Pipetear succionando el líquido a partir de la 1ª posición y dispensándolo en otro recipiente, presionando el botón hasta la 2ª posición.
- Después de terminar el pipeteado, descartar la puntera apretando el botón correspondiente.



- Enfatizar la forma correcta de manoseo:

**1) Nunca se debe agarrar la pipeta en la posición horizontal a fin de evitar la contaminación.**



2) Nunca ultrapasar los volúmenes máximos y mínimos de la pipeta.

3) Apretar y soltar el botón de pipeteo gentilmente.

- Cambiar de puntera para cada muestra diferente, a fin de evitar la contaminación de la parte fija de la pipeta y de los líquidos utilizados.

## 4

### Practicando con los participantes



Colocar en un cuadro diferentes volúmenes a ser pipeteados por cada participante, preferentemente utilizando todas las pipetas disponibles.



Pedir a los participantes que pipeteen el líquido (agua) con el volumen correspondiente a partir de un vaso de precipitado y que lo descarten en un tubo plástico



Controlar si los participantes están regulando la pipeta y pipeteando correctamente.



Si tuviera una pipeta de P10, pedir para cada participante pipetear el volumen próximo al mínimo y descartarlo en la palma de la mano, a fin de demostrar que esta cantidad es muy pequeña.



Explicar que cuando se trabaja con líquidos que no pueden ser contaminados o que presentan cualquier tipo de riesgo a quien lo manipula (Ejemplo: muestras de ADN, reactivos, productos diversos) es necesario trabajar con guantes descartables, guardapolvo y, en algunos casos especiales, con anteojos y máscaras.

# El ADN Humano



## Objetivo General

Realizar, de una forma sencilla, un procedimiento de extracción de ADN humano

## Objetivos Específicos

1. Demostrar que los seres humanos, al igual que las plantas, poseen ADN y también puede ser extraído.
2. Conocer que existen diferentes formas de extraer ADN, así como otros componentes de las células
3. Comprender que no siempre es posible observar a simple vista las moléculas que purificamos.

## Material Necesario

- 1• 2 espátulas de madera (una para cada voluntario)
  - Centrifuga
  - Vasos descartables
- 2• 10 mL de etanol absoluto helado
  - 1 guardapolvo descartable para cada participante
  - 1 par de guantes descartables por persona

- 3• 1 micropipeta p1000  $\mu$ L y punteras
- 4• Reactivo para extracción de ADN animal o humano\*
- 5• Solución de sacarosa 3% (1 cucharita de azúcar en 100 mL de agua)
- 6• Tubos de 1.5 mL (2 tubos por muestra)

\* el presente protocolo fue estandarizado para el reactivo DNAzol de la marca Invitrogen. Se utiliza 500  $\mu$ L por muestra. Otros reactivos pueden ser utilizados, siendo necesario realizar las adaptaciones según el fabricante del producto.



## 1

### Dividiendo las tareas y los materiales

- Separar los participantes en dos grupos. Cada grupo contará con un voluntario, que donará la muestra de saliva, y otro participante, que realizará el procedimiento de extracción de ADN del voluntario.
- Proveer para cada grupo una micropipeta P1000, punteras, una espátula de madera, un copo descartable con 15 mL de la solución de sacarosa 3% y 2 tubos de 1.5 mL.

## 2

### Obteniendo la muestra

- Utilizando un palito de madera, el participante raspará, delicadamente, durante 10 segundos cada lado de la mucosa bucal del voluntario. El participante conservará el palito en la mano, al mismo tiempo que el voluntario realiza el enjuague.
- El voluntario deberá realizar un enjuague de forma vigorosa con los 15 mL de la solución de sacarosa, durante 30 segundos.



- El voluntario devolverá el líquido obtenido del enjuague, al mismo vaso descartable que contenía la solución originalmente.
- El participante colocará el palito usado en el raspado en la solución obtenida en el paso anterior, asegurándose de que la parte usada quede inmersa en el líquido por lo menos por 2 minutos

## 3

### Separando el material de extracción

- El participante transferirá 1 mL del volumen obtenido en el paso anterior a un tubo de 1.5 mL, y lo centrifugará por 5 minutos a una velocidad de rotación correspondiente a 500 g (ver especificaciones del fabricante)
- Luego de centrifugar, y con la ayuda de una micropipeta, el participante retirará cuidadosamente el sobrenadante y lo descartará, quedándose con el precipitado.



Adicionando el DNAzol.



Utilizando una centrifuga

## 4

### Extrayendo el ADN

- Adicionar 500  $\mu$ L de DNAzol (o el volumen necesario del reactivo escogido).
- Homogeneizar invirtiendo el tubo algunas veces.
- Centrifugar los tubos por 10 minutos a una velocidad de rotación correspondiente a 12.400 g (ver especificaciones del fabricante).

## ¡Ampliando la discusión!

En este momento, mientras esperan que termine la centrifugación, usted puede preguntar a los participantes, qué creen ellos que fue retirado de la mejilla de los voluntarios. ¿Eran células? ¿Y dónde está el ADN dentro de esas células? ¿Cuál sería la función del reactivo DNAzol en el proceso de extracción del ADN?

- Pipetear el mayor volumen posible de sobrenadante y transferirlo a un tubo nuevo.
- Consejo: avisar a los participantes que en el próximo paso, al ser colocado el alcohol helado en el tubo, aparecerá la nube de ADN. Los participantes deben estar muy atentos, ya que a veces la nube no es muy fácil de visualizar.
- Adicionar 500  $\mu$ L de etanol absoluto (100%) helado, al mismo tiempo que se observa atentamente la formación de la nube de ADN.



## ¡Ampliando la discusión!

Es posible proponerle a los participantes realizar una comparación entre la nube observada en esta actividad y la nube observada anteriormente en la extracción de ADN de frutillas. Es posible discutir acerca de las diferencias entre los tamaños y naturaleza de las muestras, así como los protocolos utilizados en cada caso, recordando que, aunque haya sido utilizado un reactivo comercial para la extracción del ADN humano, éste debe tener la misma función que el detergente y la sal utilizados para extraer el ADN de frutillas

La demostración del protocolo de extracción con todos los participantes termina aquí, sin embargo, es posible darle una explicación acerca de los pasos que siguen en el protocolo, que es realizado por el ejecutor del módulo (ver Anexo 1), en especial, los lavados que se realizan con alcohol 75% y la conservación final del ADN.

# Anexo 1: Generando material para discusión



Este procedimiento será realizado por uno de los integrantes del grupo, sin la presencia del público participante, en el primer día de actividades, para generar material de buena calidad para garantizar la discusión del último día del módulo. El procedimiento se divide en cuatro etapas:

Etapas 1- Extracción de ADN de ocho participantes voluntarios

Etapas 2 – Técnica de PCR con dos marcadores moleculares, utilizando el ADN recolectado.

Etapas 3- Confección de un gel de agarosa 1%, aplicación de muestras y electroforesis.

Etapas 4- Observación y registro fotográfico del gel obtenido en la Etapa 3.

## Etapas 1 – Extracción de DNA

### Objetivo General

Obtener, a través del presente protocolo, muestras de ADN de voluntarios a fin de producir material de buena calidad para la discusión final en base a los genotipos.

### Material utilizado

El material será recolectado de ocho participantes voluntarios por el método de raspaje en el tejido interno de la mejilla. Es imprescindible tener un consentimiento informado firmado en el cual quede claro que el material biológico obtenido será utilizado únicamente para fines de aprendizaje en el ámbito de estas actividades educativa específicas, sin finalidad de pesquisa en el presente o en el futuro.

### Material Necesario

- 1 palito de madera para cada voluntario
- 2 vasos descartables
- centrifuga
- Etanol 75% helado
- Etanol absoluto helado
- Agua MiliQ (100 µL por muestra)
- Freezer
- Guantes descartables y guardapolvo para el ejecutor de esta actividad
- Microcentrifuga de baja rotación del tipo spin (opcional)
- 1 micropipeta de 1000 µL y punteras
- Reactivo para extracción de ADN animal o humano\*
- Sacarosa 3% (1 cucharita de azúcar en 100 mL de agua)
- Tubos de 1.5 mL del tipo eppendorf (2 tubos por muestra)
- Agitador tipo Vortex (opcional)

\* El presente protocolo fue estandarizado para el reactivo DNAzol de la marca Invitrogen®, y utiliza 500 µL. Otros reactivos pueden ser utilizados, haciéndose necesario realizar adaptaciones de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

# Procedimiento

## 1) Obtener la muestra

- Higienizar la boca de los ocho voluntarios haciendo gárgaras con agua o, si fuera posible, que cepillen sus dientes.
- De forma delicada, raspar la mucosa bucal con un palito de madera durante 10 segundos de cada lado. Sostener el palito de madera en la mano, sin tocar el área que hizo el raspado, al mismo tiempo que el voluntario realiza un enjuague.
- Cada voluntario realizará un enjuague vigoroso con aproximadamente 15 mL de la solución de sacarosa 3%, por 30 segundos.
- Cada voluntario devolverá al mismo vaso descartable que contenía la solución originalmente el líquido obtenido del enjuague.
- Colocar el palito usado en el raspado en la solución obtenida en el paso anterior, asegurándose de que la parte usada este inmersa en el líquido por lo menos por 2 minutos.

## 2) Separando el material

- Transferir aproximadamente 1 mL del volumen obtenido en el paso anterior a un tubo de 1.5 mL, y centrifugar por 5 minutos a una velocidad de rotación correspondiente a 500 g (ver especificaciones del fabricante)
- Retirar cuidadosamente el sobrenadante con ayuda de una micropipeta y descartarlo.

## 3) Extraer el ADN

- Adicionar 500  $\mu$ L de DNAzol (o el volumen necesario del reactivo escogido). Homogeneizar invirtiendo el tubo algunas veces.
- Centrifugar los tubos por 10 minutos a una velocidad de rotación correspondiente a 12.400 g (ver especificaciones del fabricante).
- Colectar el sobrenadante (aproximadamente 600 a 700  $\mu$ L) y transferirlo a un tubo nuevo.
- Adicionar 500  $\mu$ L de etanol 100% helado. Observar la formación de la nube de ADN.
- Homogeneizar invirtiendo los tubos varias veces.
- Centrifugar 3 minutos a 7.000g. Descartar el sobrenadante
- Adicionar 800  $\mu$ L de etanol 75% helado (Primer lavado).
- Centrifugar durante 3 minutos a 7.000g. Descartar el sobrenadante.
- Adicionar 800  $\mu$ L de etanol 75% helado. (Segundo lavado).
- Centrifugar durante 3 minutos a 7.000g. Descartar el sobrenadante.

\* Velocidad y tiempo de centrifugación pueden ser ajustados

## 4) Secar y conservar las muestras

- Invierta los tubos y déjelos abiertos por aproximadamente 30 segundos hasta el secado total.
- Suspender el precipitado en 100  $\mu$ L de agua MiliQ.
- Conservar las muestras en el freezer.

# Etapa 2: Amplificación de ADN humano por PCR

## Objetivo General

Generar, a través de la técnica de PCR, material para evaluar y comparar los genotipos de los voluntarios al final del módulo

## Material utilizado

Muestras de DNA extraídas de ocho voluntarios, a través del protocolo descrito en la Etapa 1

## Material Necesario

- Guantes descartables y guardapolvos para el ejecutor.
- Micropipetas P10 y P200 con sus punteras
- Reactivos necesarios:
  - Agua MiliQ
  - ADN genómico en la misma concentración obtenida en la Etapa 1
  - dNTP (desoxirribonucleotidos trifosfatados) a 10mM
  - Enzima Taq Polimerasa
  - 2 pares de primers\* (AT3 y PV92) a 20 µM
  - Tampón PCR (provisto con la enzima Taq Polimerasa)
- Termociclador
- Tubos de 1.5 mL
- Tubos de 200 µL para PCR
- 1 estante para los tubos
- Agitador vortex (opcional)

### \* Primers para el marcador AT3

F: 5' CCA CAG GTG TAA CAT TGT GT 3'

R: 5' GAG ATA GTG TGA TCT GAG GC 3'

### \* Primers para el marcador PV92

F: 5' AAC TGG GAA AAT TTG AAG AGA AAG T 3'

R: 5' TGA GTT CTC AAC TCC TGT GTG TTA G 3'

## Procedimiento

Tabla 1: Componentes para la Reacción de PCR

	1X (volumen en µL)	9X* (volumen en µL)
H2O MiliQ	14,37	129.33
Tampón**	5,0	45
dNTP	0,5	4.5
Primer F	1,0	9
Primer R	1,0	9
Taq Polimerase	0,13	1.17
ADN	3,0	3,0 x 9
Vol. Final	25	225

\* El cálculo para los volúmenes de los reactivos considera n+1, donde n es el número de muestras. Esto se realiza considerando posibles errores en el pipeteo. Por lo tanto, para las 8 muestras, el cálculo es 8+1=9 muestras.

\*\* Si el tampón que provee la empresa no contiene MgCl<sub>2</sub>, entonces debe ser adicionado. El volumen de MgCl<sub>2</sub> adicionado será restado del volumen de agua MiliQ, para que se mantenga un volumen final de 25 µL.

-Preparar 16 tubos de 200 µL (2 tubos por voluntario, correspondientes a cada marcador, AT3 y PV92). Cada tubo deberá ser identificado con el nombre del voluntario y el marcador correspondiente.

-En un tubo de 1.5 mL se prepara el Mix 1 para 9 reacciones con el marcador AT3 de acuerdo con la tabla 1, colocando por último la Taq polimerasa. No adicionar el DNA genómico todavía y homogeneizar en el vortex.

- En un tubo de 1.5 mL preparar el Mix 2 para 9 reacciones con el marcador PV92 de acuerdo con la tabla 1, colocando por último la Taq polimerasa. No adicionar el DNA genómico todavía y homogeneizar en el vortex.

-Colocar 22 µL del mix correspondiente en cada tubo de 200 µL (Ej.; en un tubo identificado como "María AT3", colocar 22 µL del Mix 1 y 3 µL del ADN extraído de María, y así sucesivamente).

-Adicionar 3 µL de ADN de cada voluntario en el tubo correspondiente, completando los 25 µL del volumen total de reacción.

-Colocar los tubos en el termociclador.

**Tabla 2: Condiciones de PCR para los marcadores AT3 y PV92**

	<b>TEMPERATURA</b>	<b>TIEMPO</b>	<b>REPETICIONES</b>	<b>ESTÁGIO</b>
	94°C	5 minutos	1	1
Paso 1	94°C	1 minuto		
Paso 2	58°C	2 minutos	30	2
Paso 3	72°C	2 minutos		
	72°C	5 minutos	1	3
FINAL	4°C			

- Al finalizar el PCR, las muestras deben conservadas en el freezer

## *Etapa 3: Confección del gel de agarosa 1%, aplicación de las muestras y electroforesis*

### **Objetivo General**

Permitir la visualización de los genotipos de los voluntarios de la comunidad, para una posterior interpretación y discusión de los resultados

## Material Necesario

- Agarosa
- Muestras de PCR
- Balanza
- Cuba de electroforesis\*
- Erlenmeyer de 50ml
- Fuente de electroforesis
- Colorante para ADN, ejemplo GelRed\*\*
- Guantes y guardapolvo para el ejecutor
- Microondas\*\*\*
- Guantes para el microondas
- Micropipeta P10 y punteras
- Parafilm
- Probeta de 250 ml
- TBE 0.5X\*\*\*\*

\* Las cantidades aquí mostradas se calculan en base de un gel de 200mL

\*\* GelRed o cualquier otra marca de colorante para ADN no tóxico

\*\*\* También puede usar baño maría

\*\*\*\* TBE: Solución tampón compuesta de Tris, Borato y EDTA.

## Procedimiento

Montar la bandeja completa (fuera de la cuba) en una superficie lisa y recta

Pesar 2 gr de agarosa

Colocar la agarosa en un Erlenmeyer de 500 mL y adicionar 200 mL de TBE 0,5X

Calentar la mezcla en el microondas hasta que la completa disolución de la agarosa. En el proceso, interrumpa el calentamiento para mezclar la solución. Tener cuidado que no rebose la solución.

Una vez que la agarosa este lista, dejar enfriar un poco, y volcar en la bandeja que previamente montada. Dejar solidificar (hasta que tenga una apariencia opaca y blanquecina). El tiempo de solidificación de la agarosa utilizada y de las condiciones del ambiente local.

## Aplicación de las muestras y corridas de electroforesis

-Una vez que el gel este sólido, retirar los peines y colocarlo en la cuba electroforética y a continuación adicionar TBE0,5X hasta cubrir totalmente la superficie del gel.

- En un trozo de parafilm colocar una 1  $\mu$ L de GelRed para cada muestra (en este caso, 16 gotas colocadas en línea, separadas y en una hilera)

- Pipetear 10  $\mu$ L de una muestra de producto de PCR y mezclarlo con una gota de GelRed colocado en el parafilm anteriormente. Una vez mezclado, colocarlo en el primer pocillo del gel. A continuación, pipetear 10  $\mu$ L de la segunda muestra y mezclarlo con otra gota de GelRed, y colocarlo en el segundo pocillo del gel. Realizar este procedimiento con todas las muestras.

- Anotar correctamente el orden de las muestras aplicadas en el gel.

Utilizando el ejemplo anterior, se podría aplicar la muestra "María/AT3" seguida por "María/PV92".

-una vez que todas las muestras fueron aplicadas en el gel, colocar la tapa de la cuba, conectar los cables correspondientes y encender la fuente.

Las condiciones de corrida van a depender del tamaño de la cuba electroforética utilizada.

**Tabla 3: Condiciones de corrida de un gel 1% en una cuba electroforética para un gel de 200 mL**

Volts	mA	Watts	Tiempo	Concentración
95	300	100	40 minutos	1%

# Etapa 4 – Observando el gel de agarose 1%

## Objetivo General

Visualizar los genotipos de los miembros voluntarios de la comunidad, para una posterior interpretación y discusión de los resultados.

## Material Necesario

- Transiluminador con luz UV (utilizar lentes de protección o tapa de acrílico para observar el gel).
- Gel a observar
- Caja de cartón forrada con material negro, o pintada de negro; donde quepa el transiluminador. Debe tener un orificio superior por donde permita realizar la observación.

## Procedimiento

- Colocar el gel en la placa de luz UV, colocarse los lente de protección, o la tapa de acrílico.
- Colocar la caja negra\* sobre el aparato
- Encender la luz UV y observar el resultado

\*de acuerdo a la disponibilidad en cada caso, en lugar de utilizar una caja de cartón, se puede utilizar una cámara oscura acoplada a un sistema de foto-documentación.

## Discusión

Los resultados correctamente fotografiados e identificados serán utilizados en la actividad final del presente módulo, en la discusión grupal, la cual estará basada tanto en las fotos del gel de agarosa, como en la variabilidad genética humana, o sea, en base a las semejanzas y diferencias entre los seres humanos, de la misma comunidad, o de diferentes pueblos y etnias.

# Descifrando códigos



## Objetivo General

Comprender cómo los códigos, de una forma general, son descifrados.

## Objetivos Específicos

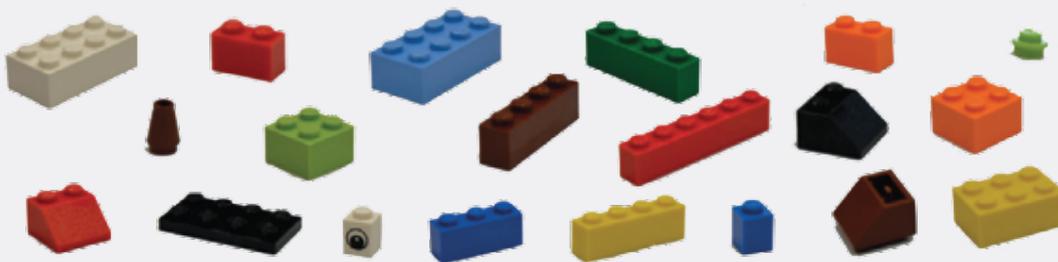
- 1) Trabajar con diferentes combinaciones que representan códigos a partir de unidades aisladas
- 2) Establecer relaciones entre secuencias construidas y un dado código
- 3) Trabajar los conceptos de variantes y la redundancia de códigos

## Material Necesario

- Piezas cuadradas de Lego© de color rojo, amarillo, blanco y azul. Se sugiere que sean entre 30 a 40 unidades de cada color.



- Cuadro con las diferentes combinaciones de tres colores y las piezas que determinan.
- 20 piezas de Lego© de formas y/o colores diferentes, en cantidades ideales de 10 unidades para los tipos menos frecuentes y de 20 a 30 de los tipos más frecuentes.



Presentamos, en esta guía, una sugerencia de tipos y colores de piezas Lego©. Observe que, dependiendo de las piezas que posee, será necesario realizar algún cambio. Tenga cuidado, al efectuar cambios entre piezas de colores y/o formas diferentes de las sugeridas, de mantener las relaciones en relación con las presentadas en la tabla anexada.

# 1

## Discutiendo diferentes códigos

- Discuta con los participantes el concepto de códigos, solicitándoles que citen diferentes ejemplos (números asociados a las fechas y los códigos telefónicos, letras asociadas a palabras en diferentes idiomas que usen el mismo tipo alfabeto, otros tipos, LIBRAS, etc.).
- Crea grupos de 8 a 10 participantes (este número podrá ser menor o mayor en función del tamaño del grupo y de la cantidad de piezas de Lego disponibles).
- Distribuya 6 piezas cuadradas de Lego de cada color.
- Solicite que cada grupo monte una secuencia, encadenando las 24 piezas, de forma aleatoria.



- Solicite a los grupos que coloquen sus secuencias en forma paralela y comparen en función de la cantidad de piezas iguales (1) o diferentes (0) en la misma posición, calculando, posteriormente, el porcentual de semejanza entre ambas.



### ¡Ampliando la discusión!

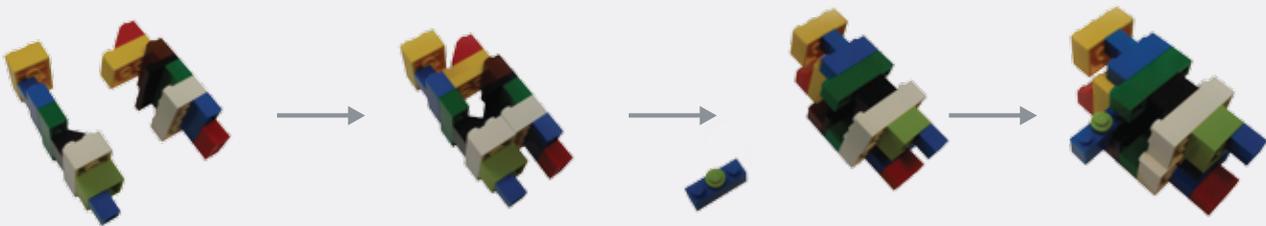
En este momento, se pueden trabajar las semejanzas entre las secuencias de los diferentes grupos.



- Presente el panel con el código para que los participantes observen sus características como, por ejemplo: a partir de la combinación de cuatro piezas unidas de tres en tres, es posible obtener 64 combinaciones. Sin embargo, estas tríadas se asocian apenas a 20 piezas nuevas (vea la tabla en anexo). Como resultado de eso, algunas piezas están asociadas apenas una tríada mientras otras están asociadas a dos, tres, cuatro o seis tríadas. Debe ser destacado que hay tríadas que no están asociadas a ninguna pieza (Fin).
- Pida a los grupos que monten, a partir de sus secuencias de 24 piezas, el producto resultante de la lectura del código fornecido en el cuadro de combinaciones.
- Solicite a los grupos que comparen los productos formados y tiren sus conclusiones.



- Sugiera que los participantes unan los productos, formados a partir de sus secuencias, de diversas maneras.



## ¡Ampliando la discusión!

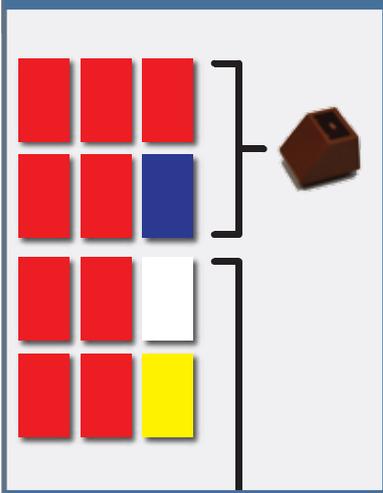
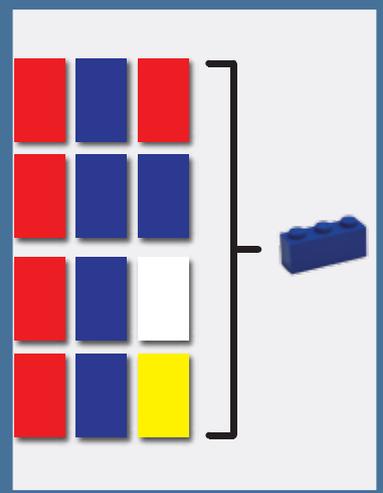
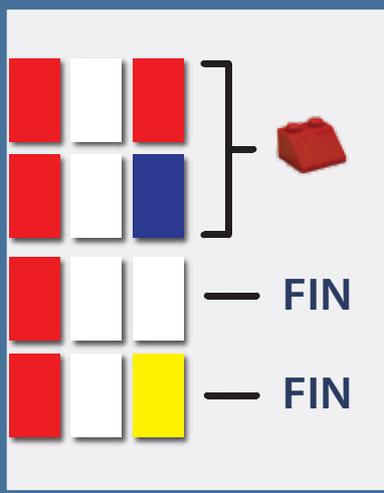
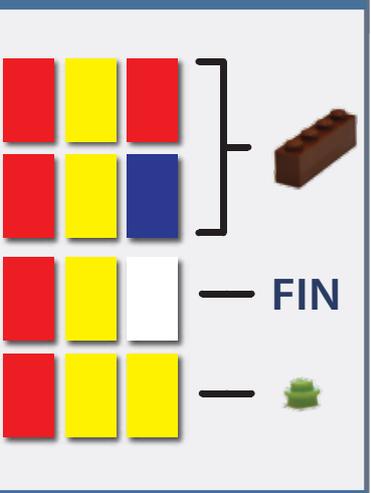
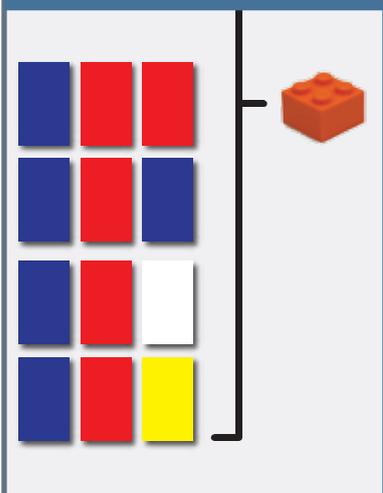
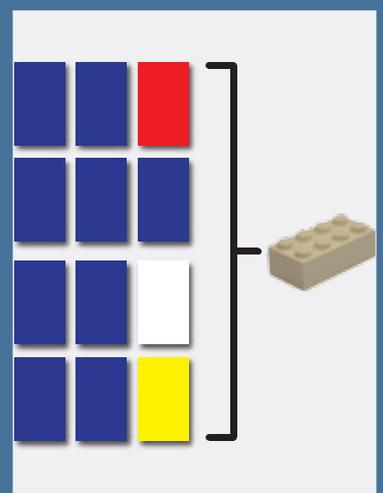
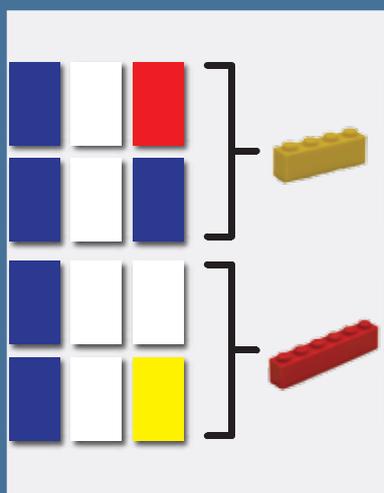
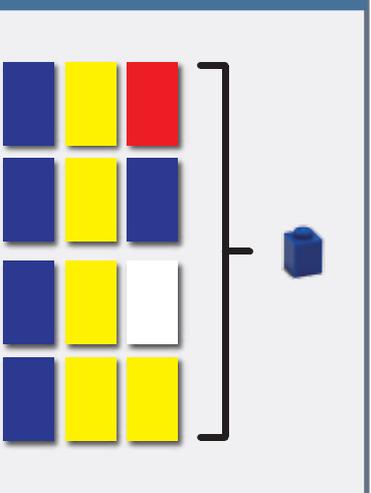
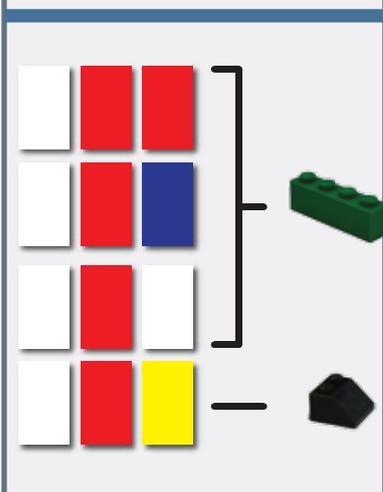
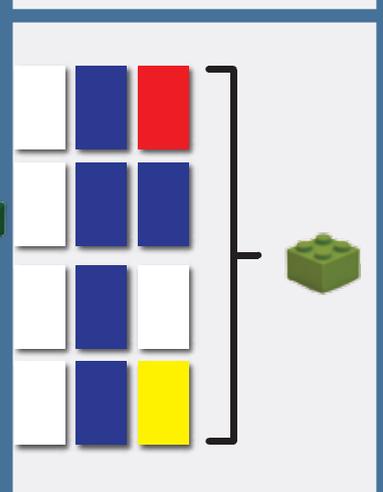
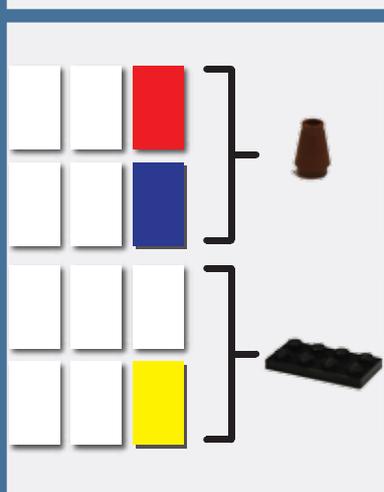
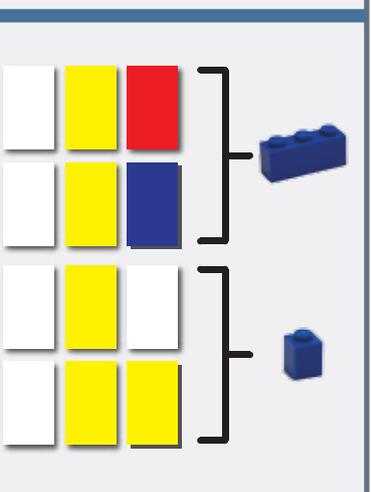
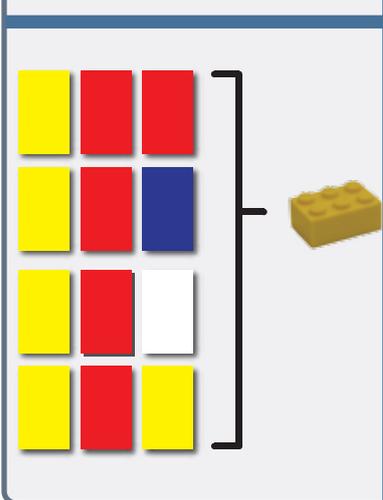
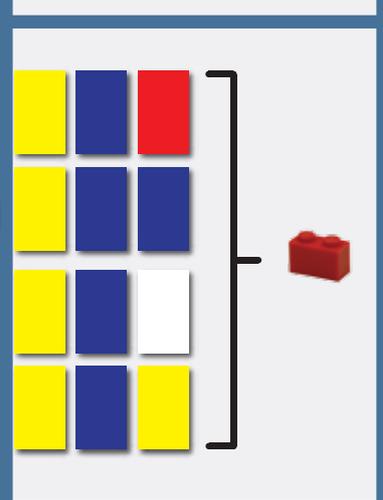
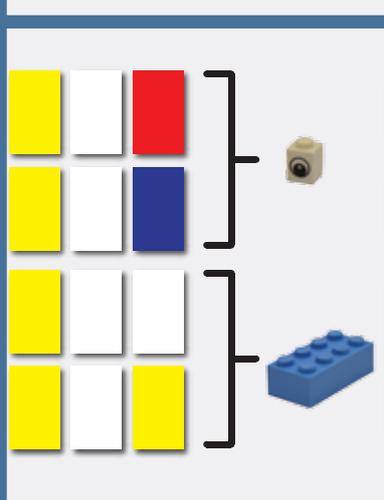
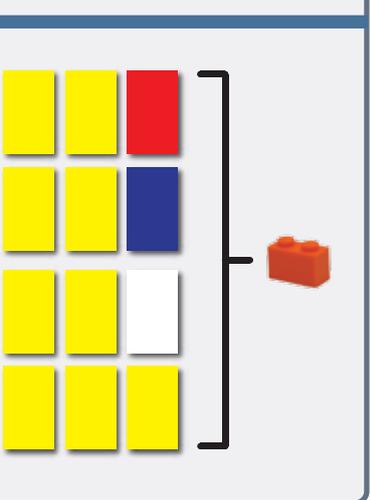
Observe que, dependiendo de que algunas tríadas no están asociadas a cualquier pieza, mientras algunas secuencias pueden ser interrumpidas, otras no pueden ser iniciadas. Solicite a los grupos que se dividan en dos subgrupos y monten, a partir de sus secuencias de 24 piezas, los productos resultantes, siendo que uno de los subgrupos hará la lectura de izquierda a derecha y el otro hará la lectura en el sentido inverso.



Pregunte a los participantes de la posibilidad o no, de que, a partir de un producto formado, se descubra la secuencia que le dio origen. Destaque que, dada la redundancia del código, a pesar de ser posible identificar una secuencia, no habrá garantías de esta ser la original.

# Descifrando el código

Para descargar en tamaño completo, haga clic aquí.

# Un gel para ver el ADN



## Objetivo General

Aprender a preparar un gel de agarosa para realizar posteriormente, la separación de las muestras de ADN de diferentes tamaños.

## Objetivos Específicos

1. Que los participantes se familiaricen con una de las técnicas más simples y universales de la biología molecular: el gel de agarosa.
2. Demostrar que algunas de las técnicas usadas por los científicos pueden ser tan simples como una receta de cocina.

## Material Necesario

- 1 200 mL de tampón TBE\*\* 0.5X
- 2 7 gr de agarosa
- 3 1 cuba de electroforesis horizontal con bandeja y los peines
- 4 Horno microondas\*\*\*
- 5 1 erlenmeyer de 500 mL
- 6 1 probeta de 250 mL
- 7 1 guardapolvo descartable para cada participante
- 8 1 par de guantes para cada participante
- 9 1 guante de horno para el microondas
- 10 1 trozo pequeño de papel madera (~10x10 cm)

### Atención

\*El presente protocolo se corresponde con la preparación de un gel de agarosa 3% de 200 mL.

\*\*TBE: solución tampón compuesta de Tris, Borato y EDTA

\*\*\* Se puede utilizar baño maría



# 1 Procedimiento

- En el caso de contar con dos cubas electroforéticas, los materiales deberán ser duplicados, y los participantes deberán ser divididos en dos grupos, siendo cada grupo acompañado por un mediador entrenado.
- Un participante de cada grupo montara, en una superficie lisa y plana, la bandeja donde será colocado el gel, con las bandas aislantes en las extremidades
- Otro participante colocará los 7 gr de agarosa en el erlenmeyer, y a continuación, colocará 200 mL de TBE 0,5X
- Cubrir la boca del erlenmeyer con papel madera, y realizar dos o tres pequeños agujeros con una puntera, para permitir la salida de vapor.



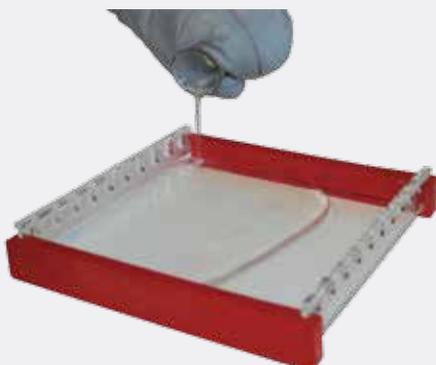
## Consejo

Si se dispone de una balanza, sugerimos que el participante pese los 7 gr de agarosa que serán colocados en el erlenmeyer. Si es posible, sería interesante proveer a los grupos de tampón TBE a una concentración mayor, de por ejemplo 5X, para que los participantes puedan preparar el volumen de TBE 0.5X necesario. En ese caso, en una probeta, los participantes colocarían 20 mL de tampón 5X con 180 mL de agua destilada.

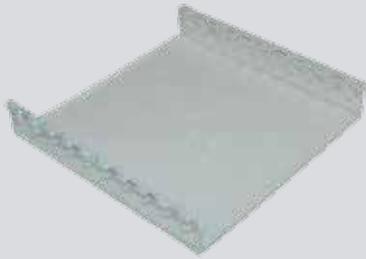


- Colocar el erlenmeyer en el microondas. Calentar por un minuto y retirarlo con ayuda de un guante de cocina. Mover el erlenmeyer suavemente para mezclar la solución y colocarlo nuevamente en el microondas. Calentar por 30 segundos y retirarlo nuevamente. Mover el erlenmeyer, teniendo mucho cuidado para que no rebese la solución debido al calentamiento. Repetir los pasos anteriores hasta obtener una solución transparente y sin grumos.

- Dejar enfriar un poco, moviendo el erlenmeyer.
- Cuando alcance una temperatura soportable en la mano del participante, verter el gel por un costado de la bandeja, muy despacio para no generar burbujas.
- A continuación, colocar los peines en el gel, en los espacios apropiados para éstos.



- Dejar solidificar el gel por aproximadamente 20 minutos (hasta que el gel tome una apariencia blanquecina y opaca).
- Una vez que el gel está sólido, retirar con cuidado los peines del gel y retirar las bandas de goma de las extremidades.
- Colocar la bandeja dentro de la cuba electroforética.



## ¡Ampliando la discusión!

Se sugiere completar esta actividad con una explicación práctica (por ejemplo, utilizando un tamizador o un filtro) el proceso de separación de cosas de diferentes tamaños. En el ejemplo del tamizador, partículas de diferentes tamaños (granos de arena, tierra o semillas) son separados de acuerdo al tamaño de los orificios. De la misma manera, el gel de agarosa se asemeja a un tamizador o un filtro, con poros microscópicos, a través de los cuales pasan los fragmentos de ADN de diferentes tamaños. Puede ser utilizada una animación donde se muestre que los fragmentos de menor tamaño viajarán más rápidamente, y por lo tanto, llegarán más lejos durante la corrida de electroforesis, en relación a fragmentos de mayor tamaño.

# Diferenciando especies a través de su ADN



## Objetivo General

Demostrar que a pesar de que todos los seres vivos poseen ADN, existen diferencias entre el ADN de diversas especies

## Objetivos Específicos

- 1) Aprender una de las maneras más simples para separar moléculas de tamaño y forma diferentes
- 2) Demostrar experimentalmente que los organismos de las más diversas especies, animales y vegetales, poseen ADN.
- 3) Demostrar que estos organismos pueden ser diferenciados por su ADN.

## Material Necesario

### Atención

Serán utilizados productos de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) previamente preparados a partir de ADN de diferentes especies animales y vegetales. Con fines didácticos, las muestras deben generar bandas de tamaños diferentes para cada una de las especies. Por tal motivo, fueron escogidos marcadores específicos que generan tamaños de bandas conocidos y diferentes entre sí.

Cámara de foto para documentar los resultados

- 1 Cuba y fuente de electroforesis
- 2 Transiluminador con luz UV
- 3 Colorante para ADN del tipo GelRed\*  
Colorante de rastreamiento (loading buffer ou loading dye)\*\*
- 4 Micropipeta P10 y punteras
- 5 1 trozo de 10cm de largo de parafilm  
Productos de PCR de diferentes especies\*\*  
Tampón TBE 0.5%. Cantidad suficiente para llenar la cuba\*\*\*

### Atención

\* O cualquier otra marca de colorante no tóxico para ADN

\*\* en el Anexo 2, se detallan los marcadores moleculares de todas las especies utilizadas en esta actividad. Estos marcadores pueden ser modificados, siempre que la banda obtenida sea de tamaño diferente para cada especie.

\*\*\* TBE: solución tampón compuesto por Tris, Borato y EDTA.



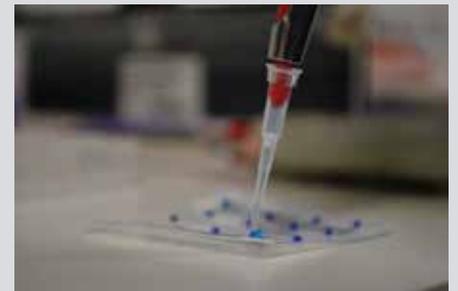
# 1 Procedimiento

- Luego de que los participantes hayan realizado la actividad del REA anterior (ver “Cómo hacer un gel de agarosa”) colocar el gel en la cuba y cubrirlo con TBE 0,5%.
- Colocar sobre un pequeño cuadrado de parafilm 1µl de GelRed por muestra (Ej.: si son 10 participantes, y si cada participante aplicará 2 muestras, colocar 20 gotas separadas y en hileras de 1 µl de GelRed sobre el parafilm.

# 2 Consejo

De acuerdo al número de especies disponibles para esta actividad, pueden ser definidas las repeticiones para cada especie (Ej.: si cuenta con cuatro especies diferentes, se puede montar un gel de 20 pocillos con cinco repeticiones de cada especie).

- Sobre el parafilm, y con la ayuda de una micropipeta P10, el participante tomará 8 µl de la muestra de ADN producto del PCR y lo mezclará con una gota de 1µl del colorante GelRed
- Una vez mezclada el ADN con el colorante, el participante identificará, con ayuda del mediador, el pocillo donde será colocada la muestra. A continuación, el participante colocará la muestra en el pocillo correspondiente en el gel.
- Después de que todos los participantes hayan aplicado por lo menos dos muestras en el gel, uno de ellos será el encargado de colocar la tapa de la cuba y colocar los cables de la fuente en los polos positivos y negativos.



# Atención

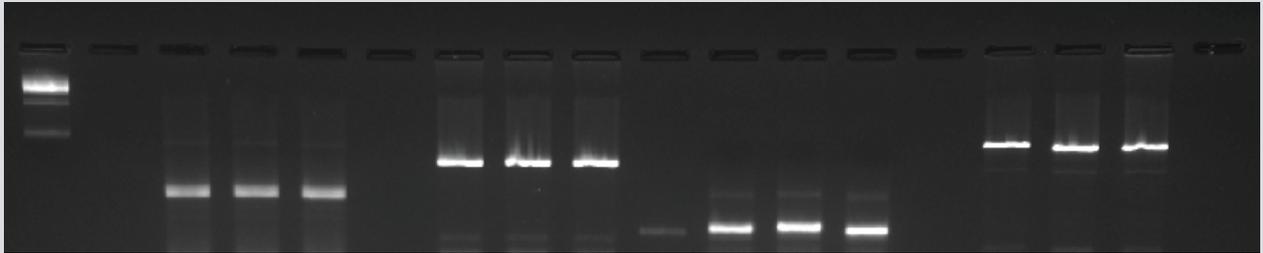
Prestar mucha atención, ya que el ADN posee carga negativa y migrará hacia el polo positivo, que debe estar en el lado opuesto al de la posición en que se encuentran las muestras.

- Encender la fuente y regularla con los valores de la corrida que sean correspondientes (ver las condiciones de electroforesis para el gel 3%\*).
- Una vez que ha transcurrido el tiempo de corrida, los participantes observarán el gel en la luz UV, protegidos con guardapolvo, guantes y lentes de protección, o la tapa de acrílico del transiluminador. Para oscurecer el campo de visión, es recomendable utilizar una caja de cartón de color negra con un orificio superior de tamaño suficiente para permitir la visualización.



### 3 Consejo

Sacar fotos del gel y utilizarla posteriormente para la discusión. Es muy importante recordar que: Ninguna parte del cuerpo debe estar desprotegida (manos, rostro, etc.) durante toda la manipulación en presencia de la luz UV.



\*El tiempo de corrida y los valores utilizados en la fuente dependen del tamaño y de la concentración del gel. En este ejemplo, el gel 3% es de 20x20 cm, y las condiciones de corrida son: 300volts, 100mA, 200Watts durante 30 minutos.

#### ¡Ampliando la discusión!

La discusión final se realiza en base a la imagen fotográfica de las diferentes bandas obtenidas en el gel de agarosa que contiene las muestras de ADN de las diferentes especies. Se sugiere preguntar a los participantes si a partir de las posiciones conocidas de los pocillos donde ellos propios aplicaron las muestras, son capaces de diferenciar las especies basándose solamente en la posición de las bandas en el gel. Preguntar que tienen en común estas especies.

### 4 Conclusión Final

Concluir que todas las especies, incluyendo la nuestra, poseen ADN, y que él puede ser extraído, manipulado, visualizado y analizado en un gel. Esto es posible porque todas las especies tienen un grado de "parentesco" entre sí. Resaltar que, a pesar de eso, cada especie tiene sus particularidades tanto físicas como en su ADN.

## Anexo 2: Marcadores moleculares utilizados en la actividad “diferenciando especies a través de su ADN”



Para realizar la diferenciación de las especies estudiadas en un gel de agarosa, al ser encomendados los primers, o al ser diseñados específicamente para el proyecto, se debe prestar mucha atención en las bandas que se obtendrán en el gel de agarosa 3%. El de las especies cuenta generalmente con una o dos especies de plantas, de ser humano, y una o dos especies de animales. A continuación, describiremos las secuencias de los pares de primers utilizados en el Proyecto Imagine.

### Goiabeira serrana (*Acca sellowiana*)

#### Marcador ASE59 – fragmento esperado 178–190 pb

Secuencia F: 5'-ACTATTGCATGCTTGCTC-3'

Secuencia R: 5'-AGGTATCTTCAGTTCTTGTTG-3'



#### Marcador ASE31 – fragmento esperado 300–340 pb

Secuencia F: 5'-TCTTCAAACAATCCACTCTC-3'

Secuencia R: 5'-TCTTCATCAGGCGACCATA-3'

### Araucária (*Araucaria angustifolia*)

#### Marcador Ag45 – fragmento esperado 161-191 pb

Secuencia F: 5'-CCATCCTCCATCATTCATCC-3'

Secuencia R: 5'-TCCCTCCCTATGTCCCAAAG-3'



#### Marcador Ag94 – fragmento esperado 173-187 pb

Secuencia F: 5'-CCCCACAATAACCCAAGATG-3'

Secuencia R: 5'-AGTAAAATCCGCTAACAAATGC-3'

### Maíz (*Zea mays*)

#### Marcador Zeina – fragmento esperado 329 pb

Secuencia F: 5'-TGCTTGCATTGTTGCTCTCCTAG-3'

Secuencia R: 5'-GTCGCAGTGACATTGTGGCAT-3'

### Gallina (*Gallus gallus domesticus*)

#### Marcadores de sexado\* – fragmento esperado aproximadamente 344 pb

Secuencia F: 5'-CTCCCAAGGATGAGRAAYTG-3' (R=A ou G; Y=T ou C)

Secuencia R: 5'-TCTGCATCGCTAAATCCTTT-3'

\*En aves, el sexo está determinado por el número de bandas. Dos bandas indican que es hembra, y la presencia de una banda indica que es macho.

### Rata (*Rattus norvegicus*)

#### Marcador D4Mgh22 – fragmento esperado 92-114 pb

Secuencia F: 5'-CCTGTCATGTTATTGATGATGATG-3'

Secuencia R: 5'-GGTCACATGAAATTTGACCTCA-3'

### Humano (*Homo sapiens*)

#### Marcador PTPN - fragmento esperado 215 pb

Secuencia F: 5'-TGCCCATCCACACTTTAT-3'

Secuencia R: 5'-ACCTCCTGGGTTTGTACCTTA-3'

# La diversidad biológica



## Objetivo General

Realizar una discusión final amplia sobre la diversidad biológica, basada en las diversas practicas realizadas durante el modulo "ADN, diversidad y herencia".

## Objetivos Específicos

- 1) Percibir y discutir las diferencias existentes entre las especies, en sus más variados niveles.
- 2) Percibir y discutir las diferencias y semejanzas existentes entre los seres humanos, que varían tanto dentro como entre grupos, pueblos y etnias.
- 3) Demostrar la utilidad del abordaje científico y de las técnicas moleculares para comprender la diversidad biológica, humana y no humana.
- 4) Establecer una relación natural entre el ser humano y las demás especies.
- 5) Comprender que la humanidad es, desde el punto de vista genético, como una "gran familia", dentro de una familia mayor que es la naturaleza.

## Material necesario

En esta actividad, los únicos materiales necesarios serán las fotografías generadas en dos actividades precedentes: "El ADN Humano -anexo 1" y "Diferenciando especies por su ADN". Caso haya disponibilidad de un proyector multimedia, lo ideal es hacer una discusión en torno de una gran pantalla, donde serán proyectadas las fotos y sus identificaciones. De lo contrario, se puede hacer esta actividad con las fotos impresas o utilizando la pantalla de un computador portátil.

## Sugerencia

En el Proyecto Imagine, el equipo siempre busca realizar esta etapa en el último día de actividades, momento en que todos los participantes se reúnen. En este momento, otros miembros de la comunidad pueden ser invitados a participar. El objetivo principal es dar un encerramiento y un sentido mayor al conjunto de las practicas realizadas, posibilitando una discusión horizontal y creativa. Antes de eso, o sea, hasta la noche del día anterior, el equipo prepara las fotos en forma de presentación de power point, donde pueden ser incluidas explicaciones y resultados de experimentos reales, tanto de la comunidad en cuestión cuanto a comunidades de otros países o regiones participantes del proyecto.



## Ejemplos de dos fotos de las especies

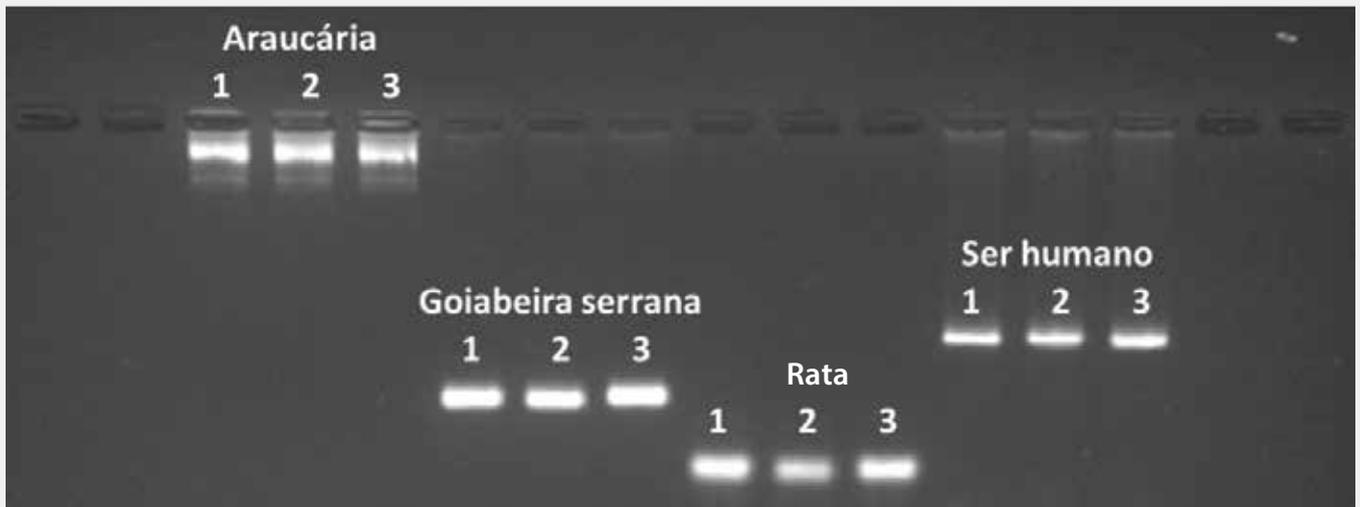


Foto 1: realizada en el laboratorio de la UFSC con las mismas condiciones de los proyectos de investigación locales.

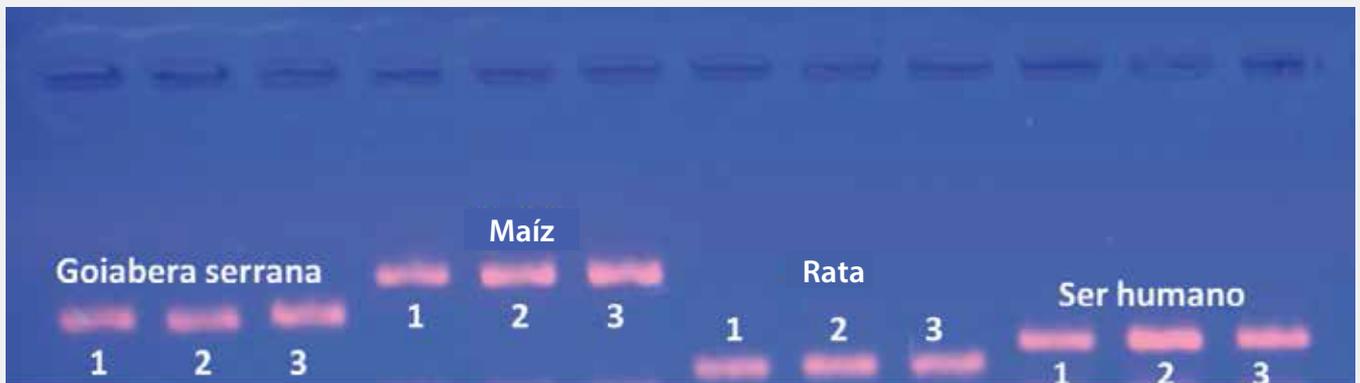


Foto 2: realizada en condiciones de campo, a partir del trabajo realizado por los niños de las comunidades rurales de Calca en Perú. La mayor parte del equipamiento utilizado pertenecía a la Universidad Andina del Cusco (agosto de 2014).

Basados en las fotos 1 y 2, se inicia la discusión envolviendo todos los participantes, para interpretar los resultados obtenidos. Es necesario explicar que los números en la pantalla (1 a 3) corresponden a las tres muestras de ADN representando cada una de las especies, que fueron aplicadas por los propios participantes en la práctica "Diferenciando especies por su ADN".

### ¡Ampliando la discusión!

En este momento, se puede hacer una recapitulación de algunos conceptos ya trabajados en etapas anteriores, como la separación de objetos o partículas de tamaños diferentes a través del uso de coladores, filtros o de la propia cromatografía en papel utilizados en actividades como "Revelando características escondidas" y "Un gel para ver el ADN". Recordar las características y la función del gel de agarosa en la separación de fragmentos de ADN.

Partiendo del principio que las bandas o líneas brillantes representan las muestras de ADN de un determinado tamaño (cuanto mayor, más alta su posición en el gel), puede deducirse que la molécula de ADN está presente en todas las especies trabajadas, representando, por lo tanto, un punto de convergencia o semejanza entre ellas. Se debe observar con los participantes que la posición de las bandas permite diferenciar una especie de otra, representando así un punto de divergencia entre ellas. Se debe observar que, en esta actividad, la especie humana también presenta semejanzas y diferencias en relación a las demás especies.

## ¡Ampliando la discusión!

Se puede destacar en este momento, dependiendo del grado de comprensión de los participantes, que las bandas observadas representan apenas un minúsculo fragmento (o un marcador) de ADN de estas especies y no su ADN total.

Se concluye que todas las especies, incluyendo la nuestra, poseen ADN. Enfatizar, sin embargo, que cada especie tiene su particularidad, tanto en términos de características aparentes como en relación a su ADN.

## Ejemplos de dos fotos de diversidad humana

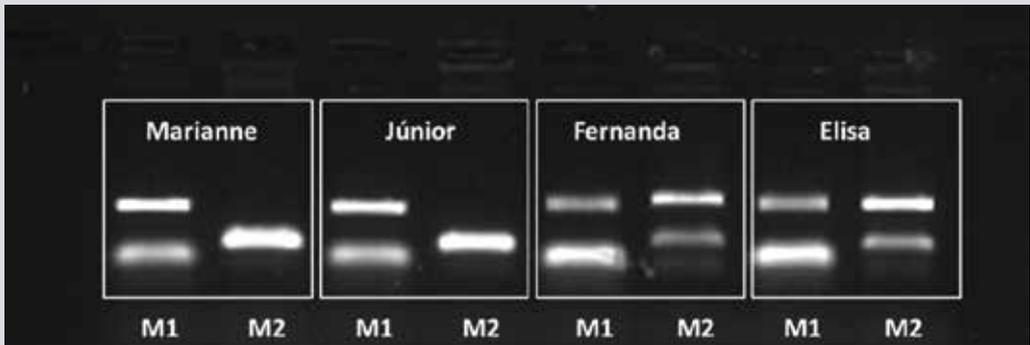


Foto 3: realizada en el laboratorio de la UFSC con las mismas condiciones de los proyectos de investigación locales.

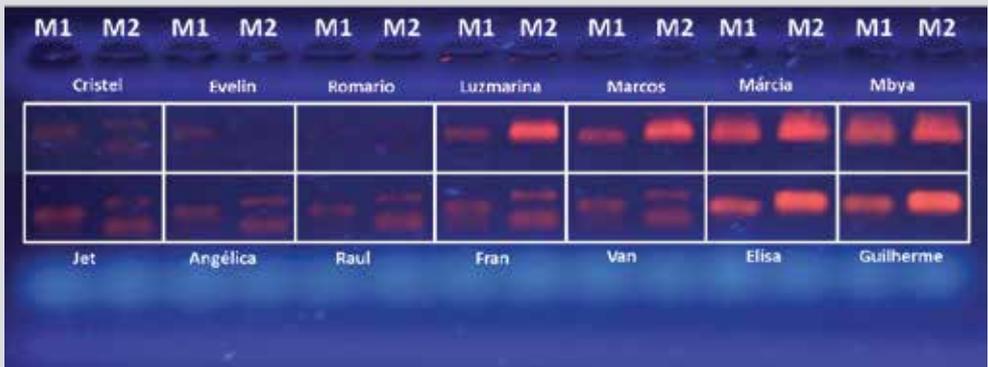


Foto 4: realizada en condiciones de campo, a partir del trabajo realizado por los niños de las comunidades rurales de Calca en Perú. La mayor parte del equipamiento utilizado pertenecía a la Universidad Andina del Cusco (agosto de 2014).



Basados en las fotos 3 y 4, se debe conducir una discusión sobre la diversidad entre las personas, tanto dentro como fuera de la comunidad, entre comunidades, etnias y países diferentes. Los nombres representan las personas voluntarias y las leyendas M1 M2 representan los dos fragmentos o marcadores de ADN analizados (AT3 y PV92, respectivamente), conforme descrito en "El ADN humano -anexo 1-".

## Atención

En esta etapa, es muy importante que los participantes tengan espacio y libertad para observar, analizar e interpretar los resultados de acuerdo con sus propias visiones y valores. Los mediadores deben conducir la discusión, ofreciendo las interpretaciones propias del método científico, enfatizando que estos resultados se refieren a una pequeña porción de ADN de algunas pocas personas analizadas y que, por lo tanto, no pueden ser generalizados para todo el material genético de cada individuo, ni tampoco para todos los miembros de una determinada comunidad o etnia.

- Preguntar a los participantes cuantas bandas pueden ser observadas para cada persona analizada, si consideramos conjuntamente los dos marcadores M1 y M2. ¿Este número es variable?
- Preguntar si las personas pueden ser diferenciadas en base al número y a la posición de sus bandas. En este caso, ¿las personas voluntarias de la comunidad local son todas iguales entre sí o también se diferencian de las otras?
- En este momento, los mediadores pueden informar de donde fueron recolectadas las otras muestras analizadas, por ejemplo, de miembros del equipo Imagine o de las comunidades X e Y que pueden, inclusive, ser de países diferentes.
- Preguntar a los participantes si es posible, en base apenas a estos resultados, identificar con certeza el origen de las personas.

## ¡Ampliando la discusión!

Se puede sugerir a los participantes que verifiquen si los marcadores M1 y M2 pueden formar grupos diferentes de individuos dentro de la misma comunidad. Caso lo formen, se puede iniciar una discusión sobre cuáles serían los criterios utilizados, dando la idea de que, al introducir más marcadores podrían formar grupos diferentes y más numerosos de "tipos genéticos".

## Sugerencia

En base a los dos marcadores aquí utilizados, es bastante probable que haya alguna variación entre las personas de una misma comunidad, principalmente si es evitada la selección de voluntarios con alto grado de parentesco. Además, también es posible que se observen semejanzas entre algunas personas de la comunidad y personas externas a ella. Caso esto no ocurra al principio, se puede ampliar el número de voluntarios, incluir otras personas del equipo de mediadores o seleccionar los productos de PCR almacenados de personas externas a la comunidad. Para esto, se recomienda que estos análisis sean hechos por el mediador responsable ya en los primeros dos días del módulo (ver "El ADN Humano -anexo 1"), para que haya tiempo de amplificar las muestras y preparar el material fotográfico para la discusión final.

## Conclusiones Finales

Lo que se busca al final de este módulo es concluir, a través de una reflexión colectiva basada en datos generados por la propia comunidad y orientada por los mediadores del proyecto, que la diversidad es propia de la naturaleza humana, en cualquier pueblo y/o región del mundo. Esta diversidad hace con que no existan dos personas exactamente iguales y que también no existan dos pueblos o etnias totalmente diferentes, pues todos comparten en algún modo, su material genético. La sugerencia es que se abra una discusión para que todos manifiesten sus impresiones, conclusiones y críticas y que reflejen sobre cómo las actividades realizadas podrían dialogar con la cultura y tradiciones locales.