

# TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS DE ÁCIDOS NUCLEICOS

Dr. GERARDO RODRÍGUEZ ALVARADO

NUMERO DE CRÉDITOS: 8

SEMESTRE AGOSTO 2017 – FEBRERO 2018

PRERREQUISITOS: Bioquímica, Microbiología, Micología

NUMERO MÁXIMO DE ALUMNOS: 6



## DESCRIPCIÓN GENERAL DEL CURSO

### OBJETIVOS

En este curso el alumno aprenderá a utilizar equipo de laboratorio como micropipetas, cámaras electroforéticas, nitrógeno líquido, centrifugas, y protocolos de laboratorio utilizados para extraer y analizar ácidos nucleicos.

**CARGA HORARIA:** 6 HORAS/SEMANA. 4 horas Laboratorio, 2 horas Teoría

### HORARIO:

**TEORÍA:** LUNES 9:00 – 11:00. **LUGAR:** Facultad de Biología, Ciudad Universitaria

**PRÁCTICAS:** MARTES 9:00 – 13:00. **LUGAR:** Laboratorio de Patología Vegetal, IIAF, Posta Veterinaria, IIAF, UMSNH. Km. 9.5 Carr. Morelia-Zinapecuaro. Tarimbaro, Michoacán.

[gra.labpv@gmail.com](mailto:gra.labpv@gmail.com)

# TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS DE ÁCIDOS NUCLEICOS

Dr. GERARDO RODRÍGUEZ ALVARADO

NUMERO DE CREDITOS: 8

SEMESTRE AGOSTO 2017 – FEBRERO 2018

PRERREQUISITOS: Bioquímica, Microbiología, Micología

NUMERO MAXIMO DE ALUMNOS: 6

## DESCRIPCIÓN GENERAL DEL CURSO

### OBJETIVOS

En este curso el alumno aprenderá a utilizar equipo de laboratorio como micropipetas, cámaras electroforéticas, nitrógeno líquido, centrifugas, y protocolos de laboratorio utilizados para extraer y analizar ácidos nucleicos.

**CARGA HORARIA:** 6 HORAS/SEMANA. 4 horas Laboratorio, 2 horas Teoría

**HORARIO:**

**TEORÍA:** LUNES 9:00 – 11:00.

**LUGAR:** Facultad de Biología, Ciudad Universitaria

**PRÁCTICAS:** MARTES 9:00 – 13:00.

**LUGAR:** Laboratorio de Patología Vegetal, IIAF, Posta Veterinaria.

**ÁREA ACADÉMICA:** BIOLOGIA CELULAR Y FISILOGIA

**FECHA DE ELABORACIÓN:** Noviembre de 2012

**FECHA DE REVISIÓN:** Marzo de 2017

**PARTICIPANTES EN LA ELABORACION:** Gerardo Rodríguez Alvarado

**PARTICIPANTES EN LA REVISION:** Gerardo Rodríguez Alvarado

**PARTICIPANTES EN EL DESARROLLO:** Gerardo Rodríguez Alvarado

**PERFIL PROFESIONAL DEL PROFESOR:** Biólogo con Doctorado en Fitopatología y con experiencia laboral y docente en actividades relacionadas con técnicas moleculares utilizadas en el manejo de patógenos de plantas.

**Profesor: Dr. GERARDO RODRÍGUEZ ALVARADO**

Posta Veterinaria, IIAF, UMSNH.

Km. 9.5 Carr. Morelia-Zinapécuaro. Tarimbaro, Michoacán

gra.labpv@gmail.com

### I. INTRODUCCION

Uno de los aspectos más importantes en el aislamiento de ácidos nucleicos es la prevención de su degradación durante el procedimiento de extracción. Esto es aun más importante cuando se requiere extraer RNA. Durante el procesamiento y metabolismo de RNA en las células ocurre de manera normal rompimiento y degradación de moléculas de RNA gracias a que las células poseen una amplia variedad de nucleasas con actividad específica y no específica. Debido a la amplia distribución de nucleasas y al daño potencial que pueden ocasionar durante el aislamiento de RNA, es importante asegurar que la actividad de estas enzimas sea inhibida totalmente. Una buena preparación de ácidos nucleicos totales o RNA es indispensable para su posterior utilización en diversas técnicas de análisis molecular.

## II. OBJETIVO GENERAL

Proporcionar a los estudiantes experiencia de trabajo en laboratorio en el manejo de diversas técnicas de extracción y análisis de ácidos nucleicos de plantas y de patógenos causantes de enfermedades en plantas.

1. Que el alumno maneje individualmente y en grupo las diversas técnicas utilizadas para la extracción de ácidos nucleicos de plantas y de patógenos de plantas.

2. Que el alumno adquiera experiencia de trabajo en laboratorio en el manejo de las técnicas utilizadas en el análisis de ácidos nucleicos de plantas y de patógenos de plantas.

## III. CONTENIDO PROGRAMATICO

### UNIDAD I ASPECTOS BASICOS DE LOS ACIDOS NUCLEICOS (10 HORAS)

OBJETIVO PARTICULAR: Que el alumno conozca los conceptos básicos sobre los ácidos nucleicos presentes en plantas y patógenos vegetales.

1. Estructura de los ácidos nucleicos
2. Tipos de ácidos nucleicos presentes en virus vegetales
3. Características de ácidos nucleicos de hongos

### UNIDAD II ASPECTOS SOBRE LA PREPARACION DE MATERIAL DE LABORATORIO PARA EL MANEJO DE ACIDOS NUCLEICOS DE PLANTAS Y PATÓGENOS VEGETALES (14 HORAS)

OBJETIVO PARTICULAR: Que el alumno conozca los aspectos básicos sobre el manejo de los ácidos nucleicos de plantas y de patógenos vegetales en laboratorio.

1. Tipos de Nucleasas
2. Esterilización de material de vidrio, plástico y de soluciones amortiguadoras
3. Exclusión de nucleasas de aparatos de electroforesis

### UNIDAD III PROCEDIMIENTOS UTILIZADOS PARA LA EXTRACCION DE ACIDOS NUCLEICOS DE PLANTAS Y PATÓGENOS TECNOLOGIAS (20 HORAS)

OBJETIVO PARTICULAR: Que el alumno conozca los métodos utilizados en la extracción de ácidos nucleicos de plantas y de patógenos vegetales.

1. Extracción de ARN de doble cadena
2. Extracción de ácidos nucleicos totales
3. Extracción de ADN de hongos

### UNIDAD IV TIPOS DE ELECTROFORESIS (20 HORAS)

OBJETIVO PARTICULAR: Que el alumno conozca los diversos tipos de electroforesis de ácidos nucleicos.

1. Geles de poliacrilamida.
2. Geles de agarosa

## IV. PRÁCTICAS DE LABORATORIO

1. Preparación de medio de cultivo líquido para hongos.  
Objetivo: Preparar medio de cultivo para crecer aislamientos de *Fusarium*.
2. Inoculación de medio de cultivo líquido con aislamientos de *Fusarium*.  
Objetivo: Hacer crecer aislamientos de *Fusarium* en medio líquido para obtener micelio.
3. Colecta de material vegetal.  
Objetivo: Obtener material vegetal para extraer ácidos nucleicos
4. Pulverización de material vegetal con nitrógeno líquido  
Objetivo: Moler material vegetal a bajas temperaturas para evitar la degradación de los ácidos nucleicos.

5. Inicio de extracción de ácidos nucleicos de material vegetal. Protocolo para dsRNAs.  
Objetivo: Obtención de una suspensión clarificada de ácidos nucleicos.
6. Continuación de la extracción de dsRNAs.  
Objetivo: Concentrar los dsRNAs.
7. Continuación de la extracción de dsRNAs.  
Objetivo: Concentrar y obtener una pastilla con dsRNAs.
8. Análisis por electroforesis de los dsRNAs.  
Objetivo: Preparar cámara electroforética para el análisis de dsRNAs.
9. Extracción de ácidos nucleicos totales de plantas.  
Objetivo: Utilizar un protocolo corto para la extracción de ácidos nucleicos totales de plantas.
10. Análisis por electroforesis de ácidos nucleicos totales de plantas.  
Objetivo: Preparar cámara electroforética para el análisis de ácidos nucleicos totales.
11. Extracción de ácidos nucleicos de hongos  
Objetivo: Extraer ADN de hongos fitopatógenos.

## V. METODOLOGÍA Y DESARROLLO GENERAL DEL CURSO

Este es un curso teórico – práctico. El instructor habrá exposiciones orales de los temas relacionados con las actividades de laboratorio. Los alumnos serán divididos en equipos en donde cada equipo contara con una estación de trabajo en las mesas del laboratorio de Patología Vegetal del IIAF. Los alumnos llevaran a cabo protocolos de extracción y análisis de ácidos nucleicos de patógenos vegetales. En ambos casos se requiere como mínimo el 80% de asistencia.

Los alumnos deberán registrar sus actividades en una libreta. Es decir, deberán anotar protocolos, notas, resultados, fotos, comentarios, etc., en una libreta destinada exclusivamente para tal propósito, la cual será entregada al finalizar el curso al instructor. Esta libreta de notas formara parte de la evaluación final del los alumnos.

Son requisitos para los alumnos:

- Atender las instrucciones del profesor, mantener limpieza, orden y profesionalismo en el laboratorio.

## VI. SISTEMA GENERAL DE EVALUACIÓN

### TEORIA

1er examen	Unidades I y II	50 %
2o examen	Unidades III y IV	50 %
Total		100 %

### LABORATORIO

Participación	10 %
Libreta de prácticas	80 %
Seminario	10 %
Total	100 %

Calificación final = Calificación Teoría + Calificación Laboratorio

---

2

## VII. CORRELACIÓN CON OTRAS MATERIAS

Para inscribirse en este curso se recomienda que el alumno haya cursado las materias de Bioquímica, Microbiología y Micología, para una mejor comprensión del material del curso.

## VIII. PROPUESTA DE CALENDARIO DE ACTIVIDADES

<b>TEMA</b>
Exposición de Unidad I Actividades de Laboratorio: • Extracción y análisis de ARN de doble cadena de plantas
Exposición de Unidad II Actividades de Laboratorio: Extracción y análisis de ácidos nucleicos totales de plantas
Exposición de Unidad III

Actividades de Laboratorio: <ul style="list-style-type: none"><li>• Extracción y análisis de ADN de hongos fitopatogenos</li></ul>
Exposición de Unidad IV Actividades de Laboratorio: <ul style="list-style-type: none"><li>• Extracción y análisis de ARN de doble cadena de hongos fitopatogenos</li></ul>
Actividades de Laboratorio: <ul style="list-style-type: none"><li>• Análisis de resultados evaluación final</li></ul>

## **IX. BIBLIOGRAFÍA**

Disponible en el Laboratorio de Patología Vegetal.

Jones, P., Qiu, J., and Rickwood, D. 1994. RNA. Isolation and Analysis. Bios Scientific Publishers. Oxford, UK.

Rogers, S. O. and Bendich, A. J. 1994. Extraction of total cellular DNA from plants, algae and fungi. En: Plant Molecular Biology Manual. Second Edition. S. B. Gelvin and R. A. Schilperoort (eds.). Kluwer Academic Publishers. London.