

**Informe final de Proyecto educativo
Convocatoria 2012-2013**

- **Nombre del proyecto:**
Introducción de un nuevo sistema modelo en las prácticas de laboratorio de bioquímica:
"Estudio del efecto de la luz ultravioleta en la levadura *S. cerevisiae*"

- **Autores:**
Nombre: Ana Kitazono Sugahara
Facultad: Ciencias
Departamento: Química
Teléfono: 965-085-604(celular), 6147800 anexo 305 (Dpto. de Química)
Dirección electrónica: anakitazono@lamolina.edu.pe

Nombre: Paola Jorge Montalvo
Facultad: Ciencias
Departamento: Química
Teléfono: 990-293366 (celular), 6147800 anexo 305 (Dpto. de Química)
Dirección electrónica: paolajom@lamolina.edu.pe

Nombre: Víctor Caro Sánchez Benites
Facultad: Ciencias
Departamento: Química
Teléfono: 2341420 (casa), 995-459-581 (celular), 614-7800 anexo 305 (Dpto. de Química)
Dirección electrónica: vcaro@lamolina.edu.pe

Nombre: Cecilia Nieto Aravena
Facultad: Ciencias
Departamento: Química
Teléfono: 999696543 (celular), 614-7800 anexo 305 (Dpto. de Química)
Dirección electrónica: cnieto@lamolina.edu.pe

- **Curso(s) en el/los que se aplicó el proyecto**
Laboratorio de Bioquímica

- **Área en la que se enmarca el proyecto:**
 - (a) Integración de la investigación a la enseñanza
 - (b) integración de TIC en la educación /

- **Objetivos**
 - a) Diseñar una sesión de práctica innovadora que incluya el uso de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* como sistema modelo de estudio y la implementación de estrategias que refuercen las habilidades de cálculo de los alumnos.
 - b) Implementar el uso de micropipetas en las prácticas de laboratorio de Bioquímica.
 - c) Analizar las expectativas de los alumnos en relación al curso de Laboratorio de Bioquímica.

- **Metodología**

Fecha de inicio y finalización del proyecto:

Fecha	Acciones
11/03	Planeamiento de compra y adquisición de materiales
18/03	Compra de micropipetas
26/04	Adquisición en calidad de préstamo de una cámara de irradiación UV
03/06 al 14/06	Preparación de medios de cultivo, inoculación de cepas, rondas preliminares
17/06 al 21/06	Desarrollo de los laboratorios en seis secciones, dirigidos por las Profesoras Paola Jorge, Pilar Aliaga y Ana Kitazono
24/06 al 28/06	Discusión de resultados y su interpretación en cada una de las secciones
05/07	Tercer examen escrito que incluyó una pregunta sobre la práctica desarrollada. Encuesta realizada a los estudiantes de cinco secciones.

Para el desarrollo de la práctica, los estudiantes fueron primero entrenados en el uso de las micropipetas y posteriormente, las usaron para preparar diluciones de suspensiones de levaduras, las mismas que fueron distribuidas en placas petri conteniendo medios de cultivo. Las placas fueron expuestas a diferentes dosis de radiación UV, incubadas a temperatura ambiente por tres días, y almacenadas en refrigeración hasta su observación y análisis. Los estudiantes contaron el número de colonias formadas en cada una de las placas y estimaron el nivel de sobrevivencia con las placas control que no habían sido irradiadas.

Para la presentación de sus informes, se pidió a los estudiantes que identifiquen genes que codifican enzimas que funcionan en la respuesta a daño al ADN. Para esto, se les instruyó en la base de datos "PubMed" que les permitió también identificar y describir sucintamente un estudio científico reciente relacionado a la enzima identificada.

- **Presupuesto**

El monto total utilizado fué de S/. 2085, que cubrió el costo de un set de tres micropipetas y accesorios. El monto fué solicitado el 25 de Marzo de 2013.

- **Resultados**

- a) **PRIMER OBJETIVO:** Diseñar una sesión de práctica innovadora que incluya el uso de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* como sistema modelo de estudio y la implementación de estrategias que refuercen las habilidades de cálculo de los alumnos (ver anexo, parte correspondiente a la "Práctica 12" en la guía de práctica actualizada). Este objetivo fue cumplido en su totalidad. Los seis grupos del laboratorio de bioquímica pudieron realizar los experimentos formulados, que les permitió utilizar por primera vez en el curso a la levadura *S. cerevisiae* como material de estudio. Estos experimentos también les permitió a los estudiantes el aprender a utilizar técnicas estériles para la inoculación y manipuleo de los medios de cultivo y hacer cálculos basados en los números de colonias que ellos mismos determinaban estaban presentes en sus placas.

- b) **SEGUNDO OBJETIVO:** Implementar el uso de micropipetas en las prácticas de laboratorio de Bioquímica.

Todos los estudiantes en los seis grupos del laboratorio de bioquímica tuvieron la oportunidad de manipular las micropipetas en múltiples ocasiones. Así, uno de los principales objetivos de nuestro proyecto educativo fué cumplido. Las micropipetas constituyen una herramienta común de análisis en cualquier laboratorio moderno de análisis químico y biológico y por tanto hemos considerado esencial el que nuestros estudiantes se familiaricen con su uso.

- c) **TERCER OBJETIVO:** Analizar las expectativas de los alumnos en relación al curso de Laboratorio de Bioquímica

Para cumplir este objetivo, se realizó una encuesta entre los estudiantes pertenecientes a cinco de los seis grupos que participaron. Los resultados se muestran en el siguiente cuadro:

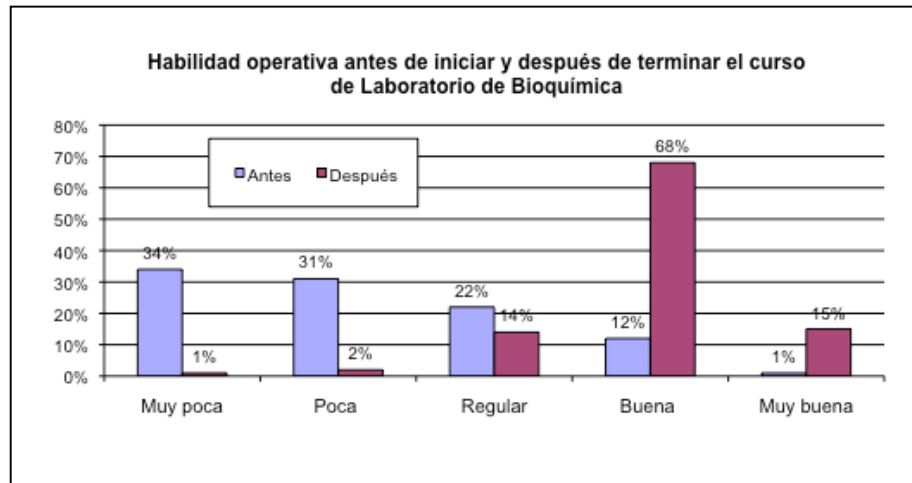
Cuadro: Encuesta sobre la motivación hacia el curso de Laboratorio de Bioquímica

N°	Grupo de investigación	Muy en desacuerdo	En desacuerdo	Más o menos de acuerdo	De acuerdo	Muy de acuerdo
Satisfacción:						
1	Estoy de acuerdo con la metodología general con la que se enseña las prácticas de Laboratorio de Bioquímica.	2%	5%	21%	47%	25%
2	Estoy satisfecho(a) con la forma en que aprendo bioquímica en el laboratorio.	3%	4%	28%	46%	19%
3	El profesor ha interactuado conmigo (confianza, apoyo, guía).	5%	8%	22%	40%	25%
Interés:						
4	Disfruté el tiempo que le dediqué a las tareas que me dejaron en el Laboratorio de Bioquímica.	6%	10%	32%	37%	14%
5	Estoy muy motivado(a) para seguir aprendiendo bioquímica.	2%	3%	28%	38%	29%
Probabilidad de éxito:						
6	Aprender temas de Laboratorio de Bioquímica me ayudará a desarrollarme en el futuro.	1%	0%	10%	38%	51%
7	Espero poder aplicar fácilmente lo aprendido en el Laboratorio de Bioquímica en cualquier situación de mi vida cotidiana.	1%	1%	11%	41%	46%
Relevancia:						
8	Los temas enseñados en el laboratorio son relevantes y apropiados.	0%	4%	10%	49%	37%
9	Lo aprendido en el Laboratorio de Bioquímica me será muy útil en mi vida profesional.	0%	2%	12%	42%	44%
10	Considero que son importantes las actividades desarrolladas en el Laboratorio de Bioquímica.	0%	1%	14%	41%	43%
Aspecto social:						
11	El trabajar en grupo ha sido motivador.	1%	6%	24%	40%	29%
12	He podido trabajar en un ambiente de cortesía y respeto.	0%	3%	19%	41%	37%

Más de un 72% de los estudiantes manifestó estar de acuerdo o muy de acuerdo con la forma en que se desarrolló el curso de laboratorio de bioquímica. También más del 84% de los estudiantes consideró que los temas aprendidos en el curso fueron importantes y de alta relevancia para el desarrollo de su vida profesional. Es importante notar que frente a estas cifras, un rango bastante menor de estudiantes (51 – 67%) manifestó haber estado altamente interesado o motivado en los temas discutidos en clase.

Frente a esta reacción sin embargo, las respuestas de los estudiantes también permite concluir que los estudiantes perciben que sus habilidades operativas aumentaron significativamente después del curso: Mientras que un 83% describe su habilidad como “buena” o “muy buena” después de terminado el curso, solo un 13% considera que se encontraba en esas categorías antes de llevar el curso. Los resultados se observan en el siguiente gráfico:

Gráfico: Percepción de los estudiantes sobre poseer habilidad operativa



- **Discusión y conclusiones**

La inclusión de un organismo modelo tan importante como la levadura en nuestras prácticas de laboratorio es sin duda, el logro más importante de este proyecto educativo. La implementación de este nuevo sistema celular nos forzó también a adquirir modernas micropipetas, las mismas que permitirán a los estudiantes familiarizarse con su uso. Anteriormente, sólo se utilizaban muestras biológicas tipo sangre o hígado que no permitían mayores aplicaciones. En el futuro, planeamos utilizar sistemas parecidos a la levadura para diversificar el uso de organismos modelo en nuestras prácticas de laboratorio. El uso de células de levaduras en nuestras prácticas permitirá posteriormente utilizar cepas que han sido modificadas genéticamente con propósitos específicos como estudiar la función de enzimas y la influencia de cambios específicos en su composición (mutaciones).

- **Comentario sobre experiencia personal del docente**

El desarrollo de este proyecto educativo ha permitido que los docentes que participamos en el curso analicemos el curso y cómo implementar innovaciones para su mejora y actualización. La bioquímica es una ciencia dinámica que requiere continua actualización y creemos que estamos trabajando en esa dirección. La reacción de los estudiantes ha sido también muy positiva e inspiradora y nos motiva a continuar innovando y mejorando las prácticas.

- **Comentario sobre experiencia personal de un estudiante (Incluya el teléfono y la dirección electrónica del estudiante) (Máximo 2 párrafos)**

RENZO CASAPIA NAKANDAKARI <20111355@lamolina.edu.pe>: “La práctica de levadura fue interesante y me parece que debe de estar incluida dentro del curso de laboratorio, aunque creo que se debería de optimizar la parte experimental, por ejemplo en

la parte del conteo de colonias, el método utilizado riendas sueltas al error, ya que cada mesa pudo considerar una colonia donde en realidad eran 3, esto creo es lo que ocurrió en mi grupo de laboratorio, hubieron algunos errores durante el conteo, pero dejando de lado eso, me pareció una buena práctica.”

Henry Giampieri Espadín Molero <20110415@lamolina.edu.pe>: "...en mi opinión la práctica de levaduras estuvo muy interesante primero por el marco teórico y el uso de la radiación UV como factor de muerte celular en organismo como el caso de la *Saccharomyces* , aunque al momento de calcular las colonias sobrevivientes pienso que nos faltaba precisión en el resultado y el método, y con respecto al problema que planteó en el examen final estuvo bueno! puesto tenía que estar claro los conceptos de dilución y cálculos de concentraciones; sin embargo, la definición de unidades inoculadas y plaqueadas creo que fue la duda de muchos de nosotros...”

Anexos

Guía de prácticas

Copia de liquidación.

Ana A. Kitazono
01/08/2013

PRÁCTICA N° 12

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA LUZ ULTRAVIOLETA EN LA LEVADURA *S. cerevisiae*"

INTRODUCCIÓN

Los estudios sobre mutagénesis adquieren cada día mayor importancia en el ámbito mundial, por el constante deterioro al que está sujeto el hábitat del hombre moderno. Por tal motivo, los seres humanos se encuentran expuestos a la acción de numerosos agentes genotóxicos (agentes capaces de dañar el ADN). Entre ellos se encuentra la radiación UV cada día con mayor incidencia sobre la tierra producto de la reducción de la capa de ozono. El cáncer a la piel es uno de los efectos más severos que producen las radiaciones UV. En la actualidad los tumores de piel son el tipo más frecuente de neoplasias humanas.

FUNDAMENTO

Las principales lesiones de la radiación UV son dímeros formados en pirimidinas adyacentes, estos dímeros de pirimidina distorsionan localmente la estructura del ADN interfiriendo en el normal apareamiento de bases complementarias. La mayor parte de los dímeros se repara de inmediato, pero algunos escapan a la reparación, pudiendo afectar a los procesos de replicación y transcripción. Cuando se bloquea la replicación, se inhibe la división celular y por lo general la célula muere, siendo éste el mecanismo para evitar que el daño en el ADN se transmita a futuras generaciones.

OBJETIVO

Conteo de colonias supervivientes a las diferentes dosis de radiación UV.

MATERIALES Y REACTIVOS

- Lámpara Ultravioleta y equipo porta lámpara
- Micropipetas SCILOGEX 20 - 200 microlitros
- Micropipetas SCILOGEX 100 - 1000 microlitros
- Puntas de micropipeta de 20 - 200 microlitros
- Puntas de micropipeta de 100 - 1000 microlitros
- Tubos de micro centrifuga
- Placas petri descartables 90x15 mm
- Agar agar CRITERION
- Extracto de levadura CRITERION
- Dextrosa CRITERION

- Peptona
- Levadura *S. cerevisiae*

PARTE EXPERIMENTAL

1. Preparar una dilución tomando una alícuota de 10 microlitros de una suspensión de levadura y trasvasándolo al tubo de centrifuga que contiene 490 microlitros de agua esteril. Agitar en el vórtex.
2. Inocular una placa petri que contiene medio YPD (dextrosa, peptona, extracto de levadura) con 150 microlitros de la dilución preparada.
3. Agitar la placa petri para promover distribución uniforme de las células sobre el medio de cultivo con ayuda de las perlas de vidrio. Remover las perlas de vidrio y conservarlas.
4. Llevar la placa petri a irradiar con luz UV bajo diferentes condiciones de tiempo y con uno o dos fluorescentes. Cubrir la mitad de la placa con papel de aluminio.
5. Incubar con la tapa dirigida hacia abajo a temperatura ambiente por 2 - 3 días.
6. Preparar diferentes diluciones (1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6) de la suspensión de levadura y leer las absorbancias a 600nm.
7. Determinar el número de células por mililitro de suspensión, considerando que una suspensión de 3×10^7 células de levadura por mililitro tiene una absorbancia de 1.000.
8. Estimar la cantidad de células plaqueadas.

TAREA

Identificar genes que codifican enzimas que funcionan en la respuesta a daño al ADN. Usar "PubMed" para identificar la enzima/gen y describir sucintamente un estudio científico reciente. Incluir esta discusión en su reporte.

