

**Lineamientos para el uso del
Laboratorio de Código de Barras de ADN
(Sistemática Molecular 1)
en el Departamento de Zoología,
Instituto de Biología de la UNAM**

Aprobados por el Consejo Interno el 9 de marzo de 2010

Infraestructura y apoyo técnico. A la fecha el Laboratorio del Código de Barras de la Vida del nodo IBUNAM, Red MexBOL del CONACYT cuenta con un equipamiento suficiente para el aislamiento y amplificación de fragmentos de ADN en placas y su visualización: 1 congelador de -20oC, 1 refrigerador, 1 termociclador, 1 vortex, 1 centrífuga, 1 visualizador de geles con computadora, 1 tissue lyser, 1 nanodrop, 1 computadora iMac. Asimismo, con el fin de optimizar el uso del equipo algunos investigadores del Departamento de Zoología comparten algunas piezas de equipo a su resguardo, dentro del mismo Laboratorio. Con respecto al apoyo técnico, se cuenta con una partida de la Red MexBOL para servicios profesionales, por medio de la cual se atenderá esta necesidad de la misma Red.

1. Finalidad del Laboratorio de Código de Barras:

La finalidad del laboratorio es apoyar el desarrollo de la Red MexBOL en el nodo Instituto de Biología UNAM para la producción de códigos de barras de ADN, previo a la secuenciación a través de las siguientes actividades:

- a. Proporcionar asesoría en la bioinformática del proyecto iBOL: características de los códigos de barras moleculares, selección de muestras, preparación de placas, formatos y protocolos para datos en BOLD, sistema LIMS, imágenes de ejemplares voucher y georeferenciación. Políticas de acceso y beneficios.
- b. Llevar a cabo la comunicación con los laboratorios de los nodos centrales del proyecto iBOL en búsqueda de asesoría y colaboración en temas referentes a la colecta y procesamiento de muestras; así como en la búsqueda y aplicación de protocolos especiales para los diferentes grupos de plantas, animales y hongos.
- c. Dar asesoría en los métodos de lisis y aislamiento de ADN genómico para los participantes con proyectos en MexBOL.
- d. Dar asesoría y acceso al equipo del laboratorio para los pasos de amplificación, visualización, y envío de placas con ADN de la o las regiones amplificadas, a los colaboradores en el nodo central de iBOL, BIO (Biodiversity Institute of Ontario).

e. Dar acceso al equipamiento para las actividades arriba mencionadas en proyectos en que los resultados del iBOL indiquen la necesidad de amplificar genes adicionales.

2. Estructura interna del laboratorio

- a. Este laboratorio da servicio a los académicos del Instituto de Biología o de otras dependencias o instituciones de la Red MexBOL, que estén en el proceso de producción de secuencias de Códigos de Barras o que estén por iniciar la producción de los mismos.
- b. La responsable del Laboratorio está encargada de supervisar el funcionamiento del mismo a través del personal técnico de apoyo, y rendirá informes anuales a la Red MexBOL. Recibe las solicitudes de apertura de proyecto y es el enlace principal con BIO.
- c. El personal técnico de apoyo está a cargo de la asesoría directa a los usuarios mediante la supervisión de la ejecución de los protocolos del laboratorio y del uso del equipo del mismo, proveyendo el entrenamiento y las recomendaciones del cuidado del mismo y lineamientos de uso de cada pieza. Junto con la responsable del mismo, se hace cargo de la administración de las adquisiciones y compras tanto de equipo como de materiales y consumibles.
- d. Los usuarios del laboratorio son los académicos o sus estudiantes en el Instituto de Biología y de otras dependencias e instituciones pertenecientes a la Red MexBOL, siempre de conformidad con estos lineamientos y previo acuerdo con la responsable del Laboratorio. Los usuarios tienen la obligación de aportar una cuota fija por producto de PCR a producir que sirve para recuperar el costo de los consumibles necesarios para su trabajo, de acuerdo a la actividad primaria del laboratorio, que es la amplificación de códigos de barras. El costo a recuperar por producto de PCR calculado con base en costos a la fecha es de 10 usd por muestra para un marcador y 15 usd con dos marcadores. Se hará un ajuste al costo anual, para tener un costo de recuperación actualizado. Los usuarios podrán realizar el pago al Instituto de Biología de la UNAM, con la guía de la responsable o del personal de apoyo.
- e. Ningún usuario sin previo aviso puede hacer uso del equipo o manejar reactivos sin la supervisión y acuerdo previo con la responsable o el personal de apoyo. Es indispensable, con el fin de que todos puedan aprovechar el equipo y obtener sus datos, respetar el trabajo de los demás y llevar un control muy cuidadoso de todo lo indicado dentro del Laboratorio y en estos lineamientos. En el caso de los estudiantes, los tutores deberán avalar la participación del estudiante y hacerse responsables por su desempeño y presentarlos a la responsable del laboratorio o al personal de apoyo.
- f. Las personas que no observen el cumplimiento de estos lineamientos no podrán ser usuarias del Laboratorio en subsecuentes solicitudes, y se suspenderá su proyecto dentro del laboratorio.

- g. Otros miembros del Instituto de Biología que no participen en proyectos de Códigos de Barras pero que requieran el uso del algún equipo en particular, podrán solicitar el acceso a las responsables, el cual será otorgado si no interfiere con las actividades del Laboratorio.

3. Procedimiento para el acceso al Laboratorio

Los interesados en usar el Laboratorio para el procesamiento de sus muestras hasta el paso previo a la secuenciación proceden de la siguiente forma:

- a. Los interesados deben contactar a la responsable y llenar el formato correspondiente a la información del proyecto que desean llevar a cabo (ver anexo 2).
- b. Se revisa en el “Taxonomy Browser del sistema BOLD” si este grupo/región no ha sido previamente cubierto, para dar paso a su inicio. Se confirma que el interesado ya tenga las muestras disponibles para llenar al menos una placa de 95 muestras con un procesamiento similar de preservación del ADN (fecha de colecta y método). Se contacta con los colegas del proyecto iBOL para asociar cada proyecto a la campaña correspondiente y los colegas en BIO que trabajan con la parte bioinformática y el proceso de las muestras.
- c. Se provee de placas y protocolos para la colecta, procesamiento de las muestras, llenado de las bases de datos, especificaciones de las fotografías y archivos correspondientes. Se apoya con el envío de las placas y la comunicación o seguimiento en BIO.
- d. De requerirse, se le provee la información del costo del procesamiento de sus muestras en el Laboratorio. Este costo corresponde a una cuota fija establecida de acuerdo a los costos estimados de los reactivos en el año anterior y funge como cuota de recuperación, solamente para los consumibles. El interesado debe procesar el pago en el IBUNAM de dicha cuota por anticipado para que el tiempo de los trámites corra al mismo tiempo que su trabajo en el Laboratorio.
- e. Se le proporcionan los métodos para los pasos de lisis y aislamiento de ADN genómico. Estos pasos se llevan a cabo en un laboratorio fuera del Laboratorio de Códigos de Barras.
- f. Los pasos de amplificación, visualización de la región de ADN seleccionada, y su preparación para el envío a secuenciación a BIO se hacen dentro del Laboratorio con la supervisión cercana del personal técnico de apoyo. Ninguna persona puede utilizar por su propia iniciativa los equipos sin previa autorización.

4. Uso y manejo de equipo

- a. El uso de todo el equipo del Laboratorio está calendarizado (agenda) en períodos definidos durante las horas hábiles. El usuario debe registrar el período y está sujeto

a la duración del mismo. El usuario puede registrar más de un período en caso de que la demanda de uso del equipo lo permita. En caso de sobredemanda se calendariza con más tiempo el acceso al equipo y se da un acceso equilibrado a todos los investigadores. En el caso específico de los termocicladores se da un periodo de 15 minutos de tolerancia a la hora reservada, con el fin de no tomar más tiempo de lo reservado y no utilizar el tiempo del siguiente usuario.

- b. El espacio dentro del refrigerador y congelador (-20°C) se especifica de acuerdo al uso que se le esté dando a éstos y únicamente es para almacenar muestras en proceso y reactivos. Los investigadores y sus asociados tienen un espacio temporal en este equipo según previo acuerdo con la coordinadora del laboratorio. Se asignará un espacio para otros usuarios. **Todos los reactivos y materiales personales deben estar en contenedores y debidamente marcados con el nombre del usuario.** El material que no se encuentre marcado se retira después de una advertencia si se conoce al usuario. Al término de los trabajos las muestras ya analizadas se retiran para liberar el espacio de uso común. Si el espacio lo permite se conservan las placas de ADN genómico en los congeladores, en el caso de que los responsables de las muestras no tengan su propia colección de referencia.
- c. Existe un manual de operación disponible en el laboratorio para cada equipo. En caso de que no se encuentre disponible, se puede solicitar al personal de apoyo del laboratorio. Para un mejor monitoreo, algunos equipos delicados cuentan con libretas de registro, donde obligatoriamente el usuario se anota, haciendo referencia a la fecha y hora en que utilizó el equipo.
- d. Si alguna pieza de cristalería o equipo sufre algún desperfecto debe notificarse a la responsable o al personal de apoyo para solucionarlo como corresponde. Si el desperfecto resulta de no saber operarlo o por negligencia deberá ser arreglado o reemplazado con cargo al usuario.
- e. Existen áreas designadas para usos particulares (para preparación de reacciones, proceso de amplificación, manejo de reactivos, etc.). El uso de estas áreas debe ser respetado para evitar contaminación de experimentos y de los mismos usuarios. Los espacios de trabajo en las mesas serán distribuidos de acuerdo al número de usuarios y a la frecuencia de uso y disponibilidad.
- f. Las gavetas de almacenamiento se utilizan para guardar cristalería y objetos de uso común (puntas, tubos, guantes, sanitas, etc.). El espacio restante se distribuye de acuerdo al número de usuarios activos pero su uso será evaluado semestralmente. Al término de la investigación el espacio debe ser liberado.

5. Uso y manejo de reactivos y químicos

- a. Todo material corrosivo, ácidos, bases y solventes deben manejarse en la campana de extracción. Por ningún motivo deben ser aspirados con la boca; siempre debe utilizarse una pipeta con bombilla o propipeta.

- b. Se cuenta con hojas impresas con los procedimientos de seguridad para cada sustancia peligrosa utilizada en el laboratorio con el fin de evitar confusiones tanto de almacenamiento como de manejo y forma de desecharla. En caso de duda o desconocimiento se debe consultar esta información o preguntar al personal de apoyo del laboratorio (ver anexos).
- c. Electroforesis en gel: solamente se lleva a cabo la visualización de productos de PCR mediante el reactivo Sybr Safe y se hace bajo las siguientes condiciones: siempre debe manejarse con guantes y el mínimo de tiempo necesario. Los geles que contengan dicha sustancia deben desecharse en el contenedor especial. El buffer utilizado en las cámaras de electroforesis también debe desecharse en el recipiente destinado para tal fin. En el caso de derrame accidental debe limpiarse con extremo cuidado el área afectada, usando para ello guantes y, desechando al terminar el papel utilizado y los guantes en el recipiente para desechos marcado como tal. Existen tres contenedores: para geles, para buffer usado en la cámara, y para papel y guantes. Las pipetas, puntas y cristalería utilizadas serán de uso exclusivo de esta área. No se permite usarlas fuera de esta área ni introducir otras de áreas distintas.

6. Restricciones

- a. Las siguientes actividades están estrictamente prohibidas dentro del laboratorio: fumar, beber, comer, almacenar alimentos y bebidas en refrigeradores o anaqueles, así como guardar cualquier tipo de artículo ajeno al laboratorio. Tampoco está permitido recibir visitas o hacer reuniones en este espacio.
- b. Para evitar contaminación dentro y fuera del laboratorio **se prohíbe estrictamente salir con la bata y guantes puestos.**

7. Medidas de seguridad

- a. La entrada al laboratorio es autorizada por la responsable del laboratorio quien tendrá el código de acceso o llaves. El personal de apoyo técnico tiene el derecho de contar con un juego de llaves. Otros usuarios podrán tener un duplicado de las llaves, sólo de existir una justificación para ello, con previo acuerdo con la responsable del laboratorio, pero esos usuarios no podrán autorizar a terceras personas de acceder al laboratorio o al equipo por su cuenta.
- b. Para evitar cualquier tipo de contaminación de los usuarios y equipo, los materiales de desecho son manejados de acuerdo con las indicaciones de la Comisión de Seguridad e Higiene. Dependiendo del origen de los desechos estos son depositados en contenedores especiales. Habrá contenedores para líquidos volátiles, muestras orgánicas (desechos de extracción de ADN), desechos de buffers, para desechos de clonación (incluye TODO el material que ha estado en contacto con células de transformación), y desecho de consumibles que no hayan estado en contacto con materiales de clonación o sustancias cancerígenas (guantes, puntas, microtubos, papel, etc.).

- c. Existen lugares designados para el botiquín de primeros auxilios y los extinguidores que el usuario deberá identificar desde un principio.
- d. En caso de accidentes, emergencias o desperfectos se deberá avisar inmediatamente a la responsable o las personas de apoyo técnico.

8. Obligaciones

- a. En la medida de las necesidades, todos los usuarios deben cooperar en el llenado de cajas con puntas y a la esterilización de material y equipo.
- b. Es obligación de cada usuario mantener limpia el área de trabajo y limpiar el material y cristalería utilizado para evitar contaminación y contacto con sustancias nocivas por un tercero. Se retirarán objetos y materiales que obstruyan el buen funcionamiento del laboratorio.
- c. Se calendarizará la limpieza de sitios particulares del laboratorio de manera compartida (área, equipo y materiales de uso común).
- d. En caso de requerir utilizar nitrógeno líquido puede obtenerlo en el Instituto de Investigaciones en Materiales a través de una solicitud de servicio a la administración autorizada por su Departamento. El usuario cubrirá el costo del nitrógeno utilizado.
- e. Los usuarios se comprometen a hacer buen uso y estar pendientes del buen desempeño del laboratorio, equipo y materiales, así como también mantener un ambiente cordial de trabajo.

9. Sanciones

- a. Al usuario que no acate los lineamientos le será restringido el uso del laboratorio y deberá reparar cualquier perjuicio causado.

10. Agradecimientos

- a. En cualquier publicación que resulte del trabajo desarrollado en el laboratorio deberán reconocerse las facilidades otorgadas para la realización del mismo.

11. Terminación del proyecto iBOL.

- a. En caso de conclusión del proyecto de Código de Barras de la Vida, el laboratorio seguirá siendo un área de servicio a los académicos del Instituto de Biología y colaboradores, si así lo determinan sus autoridades.

Anexo. Procedimientos de seguridad para manejo de sustancias peligrosas.

- b. **Ácido acético.** Es una sustancia irritante, deberá manejarse con cuidado y siempre bajo la campana de extracción (Laboratorio 4). Los desechos diluidos podrán verterse directamente en la tarja y dejar correr el agua.
- c. **Ácido clorhídrico.** Es una sustancia corrosiva, cuyos vapores son irritantes a los ojos y membranas mucosas. Para su manejo es necesario utilizar lentes de seguridad y guantes en la campana de extracción (Laboratorio 4). No deben utilizarse lentes de contacto al trabajar con este compuesto. Se puede desechar diluido con agua directamente en la tarja, neutralizado con carbonato de calcio o cal y debe agregarse abundante agua.
- d. **Hidróxido de sodio.** Es un sólido blanco, es soluble al agua desprendiéndose calor. Para su manejo se recomienda el uso de lentes de seguridad, bata y guantes. Siempre debe manejarse en una campana de extracción (Laboratorio 4). No deben utilizarse lentes de contacto al trabajar con este compuesto. Para desecharlo es necesario agregar lentamente y con agitación agua y hielo. Ajustar su **pH** a neutro con **HCl** diluido. La disolución acuosa resultante puede tirarse al drenaje diluyéndola con agua. Durante la neutralización se desprende calor y vapores por lo que debe hacerse lentamente.
- e. **Cloroformo.** Es un líquido incoloro muy volátil. Es muy tóxico. El uso de este producto debe hacerse en la campana de extracción (Laboratorio 4), evitando respirar los vapores y el contacto con la piel. Por lo que debe de utilizarse bata, lentes de seguridad y guantes durante su manejo. No deben usarse lentes de contacto al trabajar con este producto. Para trasvasar pequeñas cantidades debe usarse propipeta y pipeta. Para desecharlo, si se trata de pequeñas cantidades, puede dejarse evaporar en una campana extractora (Laboratorio 4).
- f. **Fenol.** Puede causar quemaduras severas a la piel e impregnar la ropa. Es necesario el uso de guantes, bata y lentes de seguridad y debe manejarse siempre bajo la campana de extracción (Laboratorio 4). Debe tenerse un frasco o recipiente contenedor para guardar el fenol y otro para sus desechos.

Anexo 2. Formato de Registro de Proyectos.



**Red Temática del Código de Barras de la Vida
Laboratorio del nodo IBUNAM
Registro de Proyecto**

Iniciales y nombre del proyecto	
Registrado en BOLD?	
Responsable e institución	
Participantes e instituciones	
Contacto en BIO	
Fecha de inicio	
Fecha probable de terminación	
Fuentes de financiamiento	
Grupo(s) taxonómico(s)	
Área(s) geográfica(s)	
Números de códigos de barras a producir en este proyecto	
Formación de recursos humanos	
Posibles productos generados	
Observaciones	
Persona que llenó el formato, teléfono y correo electrónico	