

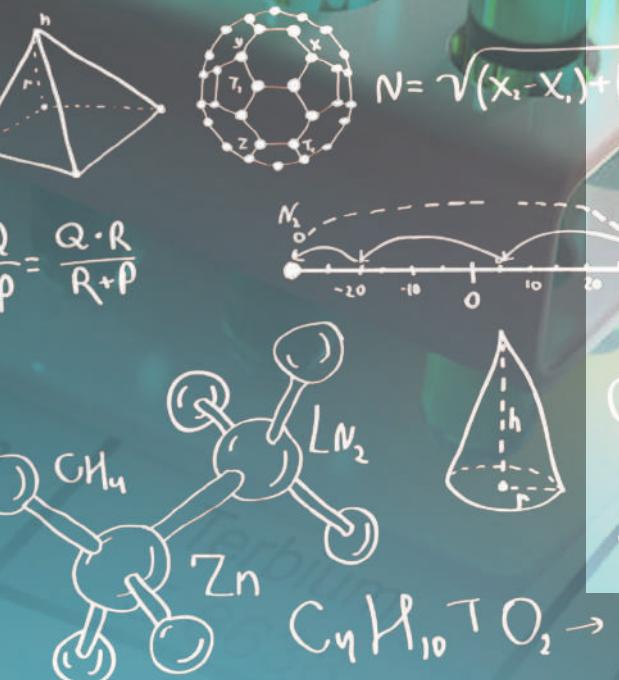
**OTL**

Oficina de  
Transferencia y  
Licenciamiento

DUC IN ALTUM

UA

UNIVERSIDAD  
AUTONOMA  
DE CHILE



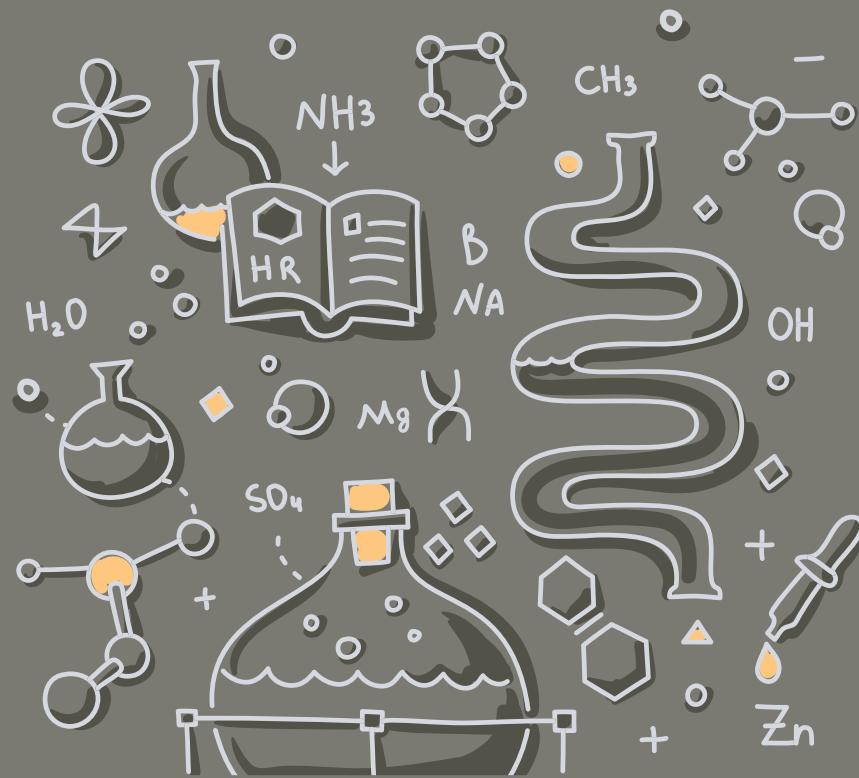
# Manual

## Cuaderno de

# Laboratorio



La Universidad Autónoma de Chile, a través de la Oficina de Transferencia y Licenciamiento (OTL), pone a disposición de sus investigadores y colaboradores en investigación, un manual de uso del cuaderno de laboratorio, a fin de fortalecer y resguardar las actividades de investigación que se realizan al interior de la institución.



## Cuaderno de Laboratorio

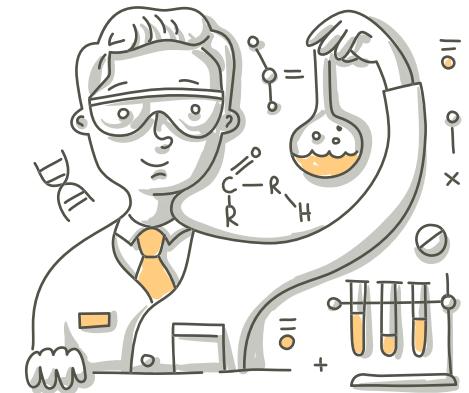
El cuaderno de laboratorio, también conocido como bitácora, es un medio de registro, correlativo y cronológico, de las actividades que se realizan en el marco de una investigación, tanto de los protocolos utilizados, como de sus datos y resultados. Esto permite resguardar y proteger apropiadamente toda la información obtenida en el proceso investigativo.



**Quien utiliza el cuaderno de laboratorio es el investigador y este debe considerar plasmar un registro claro, preciso y detallado de las actividades que realice.**

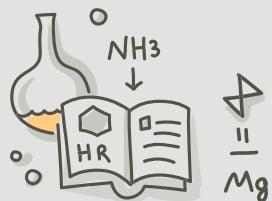
Por lo anterior, es necesario que el investigador respete adecuadamente los requerimientos que un cuaderno de laboratorio debe cumplir, a fin de tener un registro confiable y veraz que pueda permitir conservar la integridad de los procedimientos y resultados de una investigación así como también demostrar, en caso necesario, su autenticidad y pertenencia.

Ahora, si bien la forma de registrar en este instrumento varía dependiendo de la naturaleza de la investigación y su campo de desarrollo, **en este manual se entregarán las reglas básicas que pueden ser aplicadas para un correcto registro en cualquier área.**



### Características del cuaderno de laboratorio

- ✓ Debe decir exactamente lo que se hizo y cuándo se hizo.
- ✓ Debe indicar quién lo hizo.
- ✓ Debe permitir que cualquier persona pueda reproducir las actividades descritas.
- ✓ Debe ser permanente y verificable.



- ✓ El cuaderno de laboratorio **debe ser revisado en forma periódica por el director de proyecto o encargado de la investigación**, para corregir errores en el registro de protocolos o datos y evitar posibles acciones fraudulentas.
- ✓ El cuaderno de laboratorio puede ser utilizado tanto para tesis de pregrado y postgrado, como para proyectos de investigación de ciencia básica y aplicada.

## Uso en Investigación

Es importante considerar que en toda actividad de investigación son muchas las experiencias o experimentos que se realizan buscando un determinado resultado, por lo que el correcto registro permite no olvidar las decisiones tomadas en su momento y que más tarde pueden ser críticas para el éxito de la investigación. A veces, las experiencias o experimentos deben repetirse o bien se debe modificar parcialmente un procedimiento y es conveniente contar con un registro de los pasos dados para no dar espacio a omisiones.



**El uso del cuaderno de laboratorio permite la validación de los resultados y la certificación de la veracidad de la información que contiene, pues es un registro original, preciso y permanente de las actividades de investigación, considerando que todos los detalles y datos obtenidos deben ser registrados en el momento que se generan.**

Finalmente, **el correcto registro de datos o resultados en el cuaderno de laboratorio, facilita la publicación en revistas de investigación ya que se dispone de todos los antecedentes en forma clara y ordenada** y, en caso necesario, permite reproducir fácilmente los resultados.

## Uso en Innovación

El cuaderno de laboratorio, contiene la información que puede ser protegida por patentes de invención o modelos de utilidad y, por lo tanto, el cuaderno de laboratorio es el medio a través del cual se obtienen los resultados que permiten sustentar lo que se desea proteger.

Además, el cuaderno de laboratorio es un elemento clave para determinar la autoría de una invención (quién o quiénes son los inventores) y, en el caso de haber más de un inventor, establecer el porcentaje de autoría de cada uno.



- ✓ El trabajo que se registra en el cuaderno de laboratorio es el trabajo propio. En caso de realizar una actividad en pareja, los datos son comunes pero no la redacción de los mismos.



## Instrucciones para el correcto uso del cuaderno de laboratorio



El cuaderno de laboratorio permite documentar las hipótesis, protocolos de experimentos, resultados, datos y análisis o interpretación de resultados.

La información descrita debe ser clara y precisa considerando:

- ✓ ¿Qué se hizo?
- ✓ ¿Cómo se hizo?
- ✓ ¿Quién lo hizo?
- ✓ ¿Cuándo se hizo?



Se debe firmar usando el nombre y en caso de usar rúbrica, esta debe estar acompañada del nombre.

No se pueden utilizar notas adhesivas y anotar información en hojas sueltas.

Se debe registrar la fecha de inicio del experimento, las fechas en las que el experimento estuvo en marcha y su fecha de término.

No se puede compartir el cuaderno de laboratorio, es de uso personal.

Todo lo escrito debe ser legible y perdurable. Se debe usar lápiz pasta o tinta indeleble.

No se puede utilizar lápiz grafito o tinta no indeleble.

No se puede borrar nada. En caso de un error o corrección, debe tacharse utilizando una sola línea sobre el texto para que, de igual forma, pueda ser legible el texto erróneo. Se debe fechar la corrección.

No se pueden eliminar los registros incorrectos. No se pueden borrar con corrector (o similar) los registros erróneos o sus correcciones.

Los espacios en blanco de las hojas o las hojas que no se usen, deben inutilizarse trazando una línea diagonal sobre ellas.



## ¿Cómo registrar información y experimentos?

- Se debe indicar el diseño del experimento, detallando la cantidad de materiales utilizados y su procedencia, la que puede ser comercial, interna o de terceros.
- Se debe anotar el procedimiento del experimento. En caso de repetir la metodología descrita previamente, se puede hacer referencia a la página del cuaderno donde se anotó por primera vez.
- Se deben anotar todas las variables (por ejemplo, hora, temperatura, cantidades, etc.) de manera que el experimento pueda ser replicado fácilmente.
- En caso de que dos personas utilicen la misma metodología para su experimento, cada uno debe detallar en su cuaderno tanto la metodología como sus propios resultados. Se puede hacer referencia a metodología de literatura, indicando la cita completa, pero no se puede hacer referencia a otro cuaderno.
- Los cuadernos de laboratorio deben tener registro cronológico. Cuando un experimento termine comienza el siguiente. En caso de realizar un experimento o experiencia antes de que termine la anterior, se debe anotar en la última página del experimento no finalizado la página donde continúa y, en el comienzo de la continuación, se debe indicar la página de la que proviene.
- Se deben anotar todos los resultados, incluso los negativos.
- Las actividades en terreno deben ser mencionadas en el cuaderno, anotando las condiciones que al investigador le parezcan relevantes, como lugar, hora, condiciones climáticas u otras.
- Se debe indicar la causa de los períodos largos de inactividad en el cuaderno, como vacaciones, licencias médicas u otros.



En el caso de investigaciones que requieran el uso de otro tipo de material de soporte, estos datos deben estar referenciados en el cuaderno de laboratorio y deben ser considerados como parte del registro permanente.



Para las investigaciones que trabajen con MEGA datos, en el cuaderno se debe indicar la metodología utilizada, las decisiones para poder reproducir el experimento e indicar la ruta de registro computacional. Se debe procurar que el respaldo computacional sea fiel reflejo de lo anotado en el cuaderno y disponer de un respaldo permanente de los datos.



Las fotos originales, material impreso, tablas y gráficos deben ser pegadas en el cuaderno, procurando que su adhesión sea firme a fin de evitar pérdidas de información. Se debe firmar al final de la imagen y dicha firma debe abarcar la imagen y la hoja en la que han sido pegadas.



Si el material no puede ser correctamente pegado, debe colocarse un sobre y pegarlo al cuaderno.

## Firmante y cofirmante

**Todas las hojas deben ser firmadas (nombre y rúbrica) por la persona que realiza los experimentos o experiencias de investigación.**

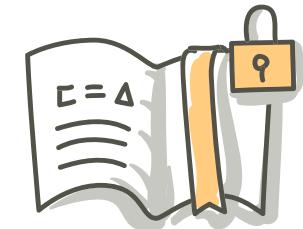


Además, cada página del cuaderno de laboratorio debe ser firmada por un tercero o cofirmante, de preferencia que no figure como inventor en una futura patente que se origine de los experimentos que firma. El rol del cofirmante es dar fe de la existencia de la página como tal y cómo ha sido escrita y firmada por el autor, pero no necesariamente debe ser testigo en el momento de la firma.

En los casos que exista material adicional en el cuaderno de laboratorio, este también debe ser firmado por el cofirmante.

## Almacenamiento y cuidados

**El correcto uso y cuidado cotidiano del cuaderno de laboratorio es responsabilidad de la persona que lo utiliza. Este debe ser guardado en un lugar protegido, que no sea de libre tránsito, a fin de evitar hurtos o robos por parte de terceros.**



La responsabilidad de la custodia del cuaderno de laboratorio corresponde al director de proyecto o al investigador responsable quien, además de asegurar la accesibilidad a la información, especialmente si se desea solicitar protección legal de los resultados de investigación, debe guardarlo por tiempo ilimitado.

## Ejemplos de uso del cuaderno de laboratorio

- I. El cuaderno debe tener páginas numeradas sin evidencia de páginas arrancadas
- II. Continuidad en comentarios/experimentos para hacer seguimiento

VIII. Título del Proyecto/Intención del experimento/Protocolos/Reactivos

124 I Enero 18, 2010

Viene de la página 120 II

**TÍTULO:** Reemplazo de Ag1 en pPIPRAI04

**OBJETIVO:** Clonar el fragmento Ag2 en el vector pPIPRAI04 en sustitución del fragmento Ag1

**PROPOSITO DEL EXPERIMENTO:** Evaluar la eficiencia de Ag2 en plantas transgénicas. La eficiencia será evaluada con el reemplazo de Ag1 por Ag2.

**ESTRATEGIA:** El fragmento Ag2 ha sido previamente amplificado (Cuaderno de laboratorio 3, pag. 120), el cual está flanqueado por el sitio de restricción AgeI. Debido a que el vector pPIPRAI04 contiene Ag1 el cual está también flanqueado por AgeI, el reemplazo será directo.

**PROTICOLO:** Utilizando el protocolo de ligación con agarosa de bajo punto de fusión descrito en el cuaderno de laboratorio 3, pag. 10, se ligará Ag2 a pPIPRAI04 previamente cortado y defosforilado.

**MATERIAL Y REACTIVOS:**

- pPIPRAI04 (DNA plasmídico 320ng/μl)
- pPIPRAI02 (DNA plasmídico 300ng/μl conteniendo Ag2)
- AgeI (NEB enzima de restricción #cat. R0592G)
- Fosfatasa Alcalina (NEB #cat. M0209S)
- T4 DNA ligasa (NEB #cat. M0202S)
- Agarosa de bajo punto de fusión (Invitrogen #cat. 15517-014)

RMA: Laura J. FECHA: 01/18/10 TESTIGO: [Firma] FECHA: 1/18/10

Fuente: Laboratorio PIPRA UC Davis

VII. Fecha/ Firma/ Testigo: Esto es importante para validar lo anotado

Aldante-Saez M, Figueroa-Balderas R, Chi-Ham C. Guía de buenas prácticas para resguardar el conocimiento y la innovación. FIA - PIPRA, Fundación para la Innovación Agraria - Chile.

III. Fecha

125 III Enero 18, 2010

**1-Cortar con AgeI pPIPRAI04 y fragmento Ag2**

pPIPRAI04	pPIPRAI02 (Ag2)
H <sub>2</sub> O 21.5μl	H <sub>2</sub> O 14.5μl
Buffer 10x #1 3μl	Buffer 10x #1 3μl
Bsa 10x 3μl	Bsa 10x 3μl
DNA 1μl	DNA 8μl
AgeI 1.5μl	AgeI 1.5μl
30μl	30μl

**2-Siguiendo el protocolo descrito en el cuaderno de laboratorio 3 pag. 10, correr gel de agarosa de bajo punto de fusión. Cortar las bandas correspondientes al vector y al inserto y ligar**

AgeI pPIPRAI04	AgeI pPIPRAI02	Reacción de ligación:
5μl	5μl	pPIPRAI04 (V)
5μl	5μl	Ag2 (Inserto)
2μl	2μl	Buffer Ligasa
2μl	2μl	T4 DNA ligasa
2μl	2μl	H <sub>2</sub> O
20μl	20μl	20μl

**3- Dejar ligando a temperatura ambiente toda la noche y transformar 5μl de la ligación utilizando 25μl de células competentes (Invitrogen #cat. N1623)**

Enero 20, 2010

**4-Purificar DNA plasmídico de 12 colonias obtenidas en la transformación utilizando el protocolo descrito en el cuaderno de laboratorio 1 pag. 15. Cortar con AgeI para analizar la presencia de Ag2**

**RESULTADO:** Ligación funcionó y se obtuvieron dos clones conteniendo Ag2. Continúa en pag. 124

FIRMA: Laura J. FECHA: 1/20/10 TESTIGO: [Firma] FECHA: 1/20/10

IV. Prohibido eliminar/borrar los resultados experimentales, aún cuando no hayan funcionado

V. Resultados elaborados/resumen de resultados

VI. Se debe firmar y fechar los datos y fotografías que se pegan en el cuaderno de laboratorio

Ejemplos de páginas interiores de cuadernos. La escritura del cuaderno se hace durante la propia realización del trabajo en el laboratorio. La supervisión diaria se refleja mediante firma del responsable de laboratorio.

PROYECTO 2 CUANTIFICACIÓN Y COMPARACIÓN DE LA CAPACIDAD CITOtóXICA SOBRE CELULAS EN CULTIVO MEDIANTE ENSAYO DE REDUCCIÓN DE MTT EN CULTIVO MEDIANTE ENSAYO DE REDUCCIÓN DE MTT

19 12 11

10

En la placa con los pozillos añadimos:

1	2	3	4	5	6
A 100ul 0.1%	100ul 0.25%	100ul 0.47%	100ul 0.9%	100ul 1.7%	Solo células
A 100ul 0.1%	100ul 0.25%	100ul 0.47%	100ul 0.9%	100ul 1.7%	PBS 100ul
B 100ul 10 <sup>-2</sup> %	100ul 10 <sup>-3</sup> %	100ul 10 <sup>-4</sup> %	100ul 10 <sup>-5</sup> %	100ul 10 <sup>-6</sup> %	PBS 100ul
B 100ul 10 <sup>-7</sup> %	100ul 10 <sup>-8</sup> %	100ul 10 <sup>-9</sup> %	100ul 10 <sup>-10</sup> %	100ul 10 <sup>-11</sup> %	SDS 100ul

Componente A. Hacemos 5 diluciones sucesivas 1:2

Componente B. Hacemos 5 diluciones sucesivas 1:100

100ul 500ul PBS, 100ul 100ul PBS, 100ul 100ul PBS, 100ul 100ul PBS, 100ul 100ul PBS

0.1%, 0.25%, 0.47%, 0.9%, 1.7%

100ul 900ul PBS, 100ul 900ul PBS, 100ul 900ul PBS, 100ul 900ul PBS, 100ul 900ul PBS

0.01%, 1-10<sup>-2</sup>%, 1-10<sup>-3</sup>%, 1-10<sup>-4</sup>%, 1-10<sup>-5</sup>%

10 11

PROYECTO 2 CUANTIFICACIÓN Y COMPARACIÓN DE LA CAPACIDAD CITOtóXICA SOBRE CELULAS EN CULTIVO MEDIANTE ENSAYO DE REDUCCIÓN DE MTT

14 12 11

10

En la placa con los pozillos añadimos:

1	2	3	4	5	6
A 100ul 0.1%	100ul 0.25%	100ul 0.47%	100ul 0.9%	100ul 1.7%	Solo células
A 100ul 0.1%	100ul 0.25%	100ul 0.47%	100ul 0.9%	100ul 1.7%	PBS 100ul
B 100ul 10 <sup>-2</sup> %	100ul 10 <sup>-3</sup> %	100ul 10 <sup>-4</sup> %	100ul 10 <sup>-5</sup> %	100ul 10 <sup>-6</sup> %	PBS 100ul
B 100ul 10 <sup>-7</sup> %	100ul 10 <sup>-8</sup> %	100ul 10 <sup>-9</sup> %	100ul 10 <sup>-10</sup> %	100ul 10 <sup>-11</sup> %	SDS 100ul

Añadimos 50 ul de MTT en todas las pocillos, incluídos los controles y lo incubamos todo durante 1 h.

Después una hora, las células habrán adquirido el color azul. Se debe observar mayor intensidad azul y donde mayor número de células hayan crecido, la intensidad del color será mayor.

Por colorimetría podemos determinar la cantidad de células vivas en cada pocillo.

11 12

PROYECTO 2 ENSAYO DE VIABILIDAD POR REDUCCIÓN DE MTT

14 12 2011

11

Reacción esperada para el MTT:

Amarillo → Violeta

Resultados:

Las resultados de la absorbancia, leída en el colorímetro a 570 nm, se muestran en la tabla 1.

Tabla 1 (continúa)

Tratamiento	0.000	0.100	0.250	0.500	1.000
A PBS	0.120	0.120	0.120	0.120	0.120
A SDS	0.120	0.120	0.120	0.120	0.120
B 10 <sup>-2</sup> %	0.120	0.120	0.120	0.120	0.120
B 10 <sup>-3</sup> %	0.120	0.120	0.120	0.120	0.120
B 10 <sup>-4</sup> %	0.120	0.120	0.120	0.120	0.120
B 10 <sup>-5</sup> %	0.120	0.120	0.120	0.120	0.120
B 10 <sup>-6</sup> %	0.120	0.120	0.120	0.120	0.120
B 10 <sup>-7</sup> %	0.120	0.120	0.120	0.120	0.120
B 10 <sup>-8</sup> %	0.120	0.120	0.120	0.120	0.120
B 10 <sup>-9</sup> %	0.120	0.120	0.120	0.120	0.120
B 10 <sup>-10</sup> %	0.120	0.120	0.120	0.120	0.120
B 10 <sup>-11</sup> %	0.120	0.120	0.120	0.120	0.120

11 12

PROYECTO 2 ENSAYO DE VIABILIDAD POR REDUCCIÓN DE MTT

14 12 2011

12

Los datos obtenidos se repican en la gráfica siguiente. La dosis letal 50 se aproxima mediante la representación gráfica, indicando un valor aproximado y un intervalo de DISE.

Conclusiones:

Tras el ensayo puede concluir que:

- La DL50 para el compuesto A se encuentra entre 12 y 15 en valores de  $-\log_{10}$  de dosis, es decir, entre unas concentraciones de 0.052% - 0.032%.
- En cuanto al compuesto B, su DL50 se encuentra en valores entre 0.1% - 0.01% existiendo una toxicidad similar que A.

11 12

Experiencia ESO-8 15-10-2003

ACETILACION DE SALICILALDEHIDO

Cornforth, J.; Dill, M.H. J. Chem. Soc. Perkin Trans I, 2183 (199)

O=Cc1ccccc1O  
1

CC(=O)C  
2

c1ccccc1  
3

$\xrightarrow{\text{CH}_2\text{Cl}_2}$   
4

CC(=O)Oc1ccccc1C=O  
5

	1	2	3	4	5
Peso molecular	122.12	102.09	79.10	84.93	164.16
Peso (g)	2.29	2.17	2.94	—	2.9
Pureza (%)	99	98	99	100	—
Milimoles	18.56	20.79	36.76	—	17.67
Equivalentes	1.00	1.12	1.98	—	—
Densidad (g/ml)	1.146	1.082	0.978	1.325	—
Volumen (ml)	2.0	2.0	3.0	3.5	—

Materia: equipo para calentamiento a reflujo.

Procedimiento: Reactivos disueltos en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y reflujo 4

Procesado: Adición de hielo (2g), agua (20 ml), la orgánica se lava con HCl 2N (3 x 15 ml), con  $\text{NaHCO}_3$  sol. sat. (3 x 15 ml) y NaCl sol. sat (1). Se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrado y evaporado.

Peso obtenido: 3g.

Destilación a presión reducida (trampa agua, 18 mmHg, 140-142°C).

Rendimiento:  $\frac{17.67 \text{ mmol producto}}{18.56 \text{ mmol reactivo limitante}} = 95\%$

Infra rojo y  $^1\text{H RMN}$  (Clave ESO-8P1)

**OTL**  
Oficina de  
Transferencia y  
Licenciamiento



UNIVERSIDAD  
AUTONOMA  
DE CHILE