

Cátedra de Zoología General (2018)

Extracción Rápida de ADN con elementos sencillos

OBJETIVO: Extraer ADN de diferentes muestras vegetales o animales .

FUNDAMENTO: La extracción de ADN requiere una serie de etapas básicas que realizaremos utilizando elementos comunes

1° Hay que romper la pared celular (célula vegetal) y la membrana plasmática para poder acceder al núcleo de la célula. A continuación debe romperse también la membrana nuclear para dejar libre el ADN contenido en el núcleo. Los jabones utilizados como lavavajillas tienen la propiedad de emulsionan los lípidos de las membranas celulares y por lo tanto las rompen.

2°.Utilizaremos sal común para evitar la unión de las proteínas al ADN.

3°.Para aislar el ADN hay que hacer que precipite en alcohol. El ADN es soluble en agua, pero cuando se encuentra en alcohol se desenrolla y precipita en la interfase entre el alcohol y el agua. Además de permitirnos ver el ADN, el alcohol separa el ADN de otros componentes celulares, los cuales quedan aislados en la solución acuosa.

MATERIALES NECESARIOS:

1.Muestra de tejido vegetal o animal : Puede tratarse de cebolla, tomate, plátano, o un raspado de la mucosa bucal.

2.Agua destilada o mineral

3.Sal de mesa

4.Detergente lavavajillas

5.Alcohol 96 ° muy frío (para ayudar a precipitar el ADN)

6.Varilla de vidrio

7.Tubo de ensayo

8. Batidora o mortero para romper los tejidos y un cuchillo.
9. Vaso de precipitado
10. Probeta o pipeta
11. Colador

PROCEDIMIENTO:

1. En el vaso de precipitado se agregan 3 cucharaditas de detergente lavavajillas.
2. Añadir además una cucharada de sal.
3. Añadir usando una pipeta 25 mililitros de agua destilada.
4. Mantener en un baño de hielo esta disolución.
5. Cortar la zona central del vegetal elegido en cuadrados.
6. Tritura los trozos del vegetal (en el vaso de precipitado grande) con un poco de agua en la batidora (la mezcla de células y agua debe ser opaca), accionando 2 veces las cuchillas a impulsos de 10 segundos. Así se romperán muchas células. En su defecto trituran la muestra en un mortero hasta obtener una "pasta" homogénea.
7. Mezcla en el recipiente grande el triturado celular con la disolución inicial del vaso.
8. Agita vigorosamente la mezcla durante al menos 5 minutos, sin formar espuma.
9. Filtrar el líquido obtenido por un colador y recolectar el filtrado.
10. Retira 5 ml. de la mezcla a un tubo de ensayo y añadir con la pipeta 5 mililitros de alcohol enfriado a 0° C. Para introducir el alcohol es importante inclinar levemente el tubo y verter lentamente el alcohol por la cara interna del tubo de ensayo. El alcohol quedará flotando sobre la mezcla.
11. Deja reposar durante 5 minutos hasta que se forme una zona turbia entre las 2 capas.

12. Introducir una varilla de vidrio o una pipeta tipo Pasteur justo debajo del alcohol (la zona turbia que queda entre las 2 capas). Remueve la varilla hacia delante y hacia atrás y poco a poco se irán enrollando los fragmentos de mayor tamaño de ADN.

13. Pasado un minuto, retira la varilla atravesando la capa de alcohol, con lo cual el ADN quedará adherido a su extremo, con el aspecto de un copo de algodón mojado.

RESULTADOS:

El producto filamentoso obtenido de la extracción no es ADN puro, ya que, entremezclado con él, hay fragmentos de ARN. Una extracción “profesional” se realiza añadiendo enzimas que fragmentan las moléculas de ARN y que impiden que se unan al ADN.

ACTIVIDADES:

1. Qué finalidad tiene el exponer las células a un detergente fuerte.
2. Realiza un dibujo de la acción del detergente sobre las células.
3. Investiga en que consiste la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)
3. Investiga y explica brevemente en qué consiste la electroforesis