

Extracción de ADN

Objetivos

1. Comprender la base de las técnicas de extracción de ADN
2. Extraer y manipular el ADN de células vegetales

Materiales

- Kiwi
- Buffer de Extracción: solución de detergente/sal (20mL de jabón líquido al 10%, 20g de sal de cocina y 180 mL de agua destilada)
- Batidora
- Embudo
- Gasa o filtros de café
- Vasos de precipitados pequeños
- Tubos de ensayo
- Zumo de piña, o líquido de lentillas OPCIONAL
- Etanol al 95% BIEN FRÍO (ideal: del congelador)
- Palillos de plástico para revolver el café

Fundamento teórico

Existen diversos procedimientos para extraer ADN de las células. Estos varían en la cantidad y pureza del ADN que se obtiene al finalizar el procedimiento, pero la base de todos ellos es muy similar.

La extracción de ADN requiere una serie de etapas básicas. En primer lugar tienen que romperse la pared celular 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. Por último hay que proteger el ADN de enzimas que puedan degradarlo y para aislarlo hay que hacer que precipite en alcohol.

La solución con detergente y sal es capaz de romper la pared celular y las membranas plasmática y nuclear.

El zumo de piña y el líquido de lentillas contienen enzimas proteolíticas, que contribuye a eliminar las proteínas que puedan contaminar el ADN.

El alcohol se utiliza para precipitar el ADN que es soluble en agua pero, cuando se encuentra en alcohol se desenrolla y precipita en la interfase entre el alcohol y el agua.

Cuando el ADN va a utilizarse en el laboratorio para otras aplicaciones, se toman estas fibras que precipitan en la interfase y se disuelven en agua o en un amortiguador apropiado. Esta solución de ADN se puede mantener a 4°C (en un refrigerador) por años, puesto que es una molécula muy estable.

Procedimiento

1. Introduzca 1 kiwi en un vaso de batidora y batir hasta que sea una pasta.
3. Agregue 10 mL del buffer de extracción a la bolsa y bata nuevamente por un minuto
4. Filtre el contenido de la bolsa a través de gasa o un filtro de café de manera que caiga en un vaso de precipitados pequeño.

5. Una vez terminada la filtración puede retirar los restos de kiwi y la gasa (filtro).
6. OPCIONAL: agregue 3 mL de zumo de piña (o líquido de lentillas) al filtrado y mezcle.
7. Transfiera el filtrado a un tubo de ensayo de forma que 1/8 del tubo esté lleno.
8. Agregue lentamente etanol bien frío a la muestra hasta que la mitad del tubo esté lleno. El etanol se agrega de manera que se deslice por la pared del tubo, no directamente sobre el filtrado.
9. En la interfase podrá ver el ADN precipitar.
10. Las fibras de ADN las puede extraer del tubo de ensayo usando un palillo plástico y reuniéndolas en un tubo eppendorf de 1.5ml.



Preguntas

1. ¿Es posible ver la doble hélice del ADN a simple vista? ¿Por qué?
2. ¿De qué está compuesto el material blanquecino que precipitó en la interfase?