



PRÁCTICA 4: EXTRACCIÓN DE ADN

OBJETIVO:

Extraer el ADN de diferentes muestras vegetales.

FUNDAMENTO:

1º.- La extracción de ADN requiere una serie de etapas básicas: En primer lugar tiene 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. Los jabones utilizados como lavavajillas emulsionan los lípidos de las membranas celulares y las rompen.

2º.- La sal evita la unión de las proteínas al ADN.

3º.- 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 son dejados en la solución acuosa.

MATERIAL:

- 1.- Muestra vegetal: Puede tratarse de cebolla, tomate, plátano, germen de trigo o un puñado de guisantes.
- 2.- Agua destilada o mineral
- 3.- Sal de mesa
- 4.- Detergente lavavajillas
- 5.- Alcohol de 96 º muy frío
- 6.- Varilla de vidrio
- 7.- Tubo de ensayo
- 8.- Batidora y un cuchillo.
- 9.- Vaso de precipitado
- 10.- Probeta o pipeta

PROCEDIMIENTO:

- 1.- En el vaso de precipitado pequeño echa 3 cucharaditas de detergente lavavajillas.
- 2.- Añade una cucharada de sal.



- 3.- Añade 25 mililitros de agua destilada. Es necesario utilizar la pipeta para extraer la cantidad de agua adecuada
- 4.- Mantener en un baño de hielo esta disolución.
- 5.- Corta 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.
- 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.- Haz pasar el líquido obtenido por un colador.
- 10.- Retira 5 ml. de la mezcla a un tubo de ensayo y añade con la pipeta 5 mililitros de alcohol enfriado a 0º C. Se debe dejar escurrir lentamente el alcohol por la cara interna del tubo de ensayo, teniendo éste inclinado. El alcohol quedará flotando sobre la mezcla.
- 11.- Deja reposar durante 5 minutos hasta que se forme una zona turbia entre las 2 capas. (Mientras esperas este tiempo, puedes ir recogiendo y limpiando todos los recipientes empleados anteriormente).
- 12.- Introduce una varilla 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 filamentosos 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 y explica brevemente en qué consiste la electroforesis.