



Extracción de ADN vegetal

(Adaptado de la Oficina de Biotecnología de la Univ. de Iowa)

Para encontrar la teoría y temas relacionados con este trabajo práctico, leer el Cuaderno N° 3

http://www.porquebiotecnologia.com.ar/educacion/cuaderno/ec_03_act.asp

Los estudiantes extraerán ADN de bananas licuadas con agua. Una parte de esta mezcla de banana, luego es tratada con shampoo y sal, mezclada durante 5-10 minutos, y luego escurrida a través de un filtro de café. A lo filtrado se le agrega alcohol frío y es éste el momento cuando el ADN de la solución de banana se precipita y se hace visible.

El detergente disuelve los lípidos (moléculas grasas) y las proteínas de la membrana celular, rompiendo las uniones que mantienen la integridad de la misma. De esta forma se libera el contenido celular. Luego, el detergente forma complejos con los lípidos y las proteínas, permitiendo que los mismos sean separados del ADN por filtración. Así se libera el ADN. La sal permite que el ADN precipite en una solución fría de alcohol y que las cadenas de ADN no se corten.

Nota para el docente: se recomienda que el material vegetal utilizado sea con poca coloración para facilitar la observación de los resultados, como ser, bananas o cebollas. En este caso se hará extracción de ADN de banana. Al final de la guía práctica se sugiere una serie de preguntas para analizar con los alumnos los resultados de la experiencia.

Materiales:

- 1 tazas o vaso de plástico (por grupo)
- Licuadora
- Una cuchara plástica para medir y mezclar
- 2 filtros de papel de café N° 2 (conos)
- 20 ml de agua destilada
- Shampoo de color claro
- 1 banana
- Sal de mesa, con o sin Iodo
- 1 pipeta de transferencia plástica o un gotero médico
- 1 tubo de ensayo sellado que contenga 95% de etanol o 91% de alcohol isopropílico
- 1 conservadora con hielo para enfriar los tubos con alcohol
- 1 varilla de vidrio o 1 pipeta Pasteur

Procedimiento para la extracción del ADN

Preparar una solución de banana procesada con sal, agua destilada y shampoo (detergente) mediante los siguientes pasos:

1. En una licuadora, mezclar una banana por taza de agua destilada (250ml).
2. Licuar por 15-20 segundos, hasta que la solución se mezcle.
3. En una taza, preparar una solución consistente en una cucharadita de té de shampoo y dos pizcas de sal.
4. Agregar 20 ml (4 cucharaditas) de agua destilada.
5. Disolver la sal y el shampoo revolviendo lentamente con la cuchara de plástico evitando formar espuma.



- 6.** A la solución preparada en el paso 3, agregar tres cucharaditas de té de la mezcla de banana del paso 1.
- 7.** Mezclar la solución con la cuchara por 5-10 minutos.
- 8.** Mientras uno de los miembros del grupo mezcla la solución de banana, otro miembro pondrá el filtro N° 2 de café dentro de otra taza de plástico. Doblar el borde del filtro alrededor de la taza para que el filtro no toque el fondo de la taza.
- 9.** Filtrar la mezcla vertiéndola dentro del filtro y dejar que la solución drene por algunos minutos hasta que sean 5 ml aproximadamente de filtrado para testear.
- 10.** Tomar un tubo de ensayo con alcohol frío. Para mejores resultados el alcohol debe estar tan frío como sea posible.
- 11.** Llenar la pipeta plástica con la solución de banana y agregarla al alcohol. El ADN no es soluble en alcohol. Cuando el alcohol se agrega a la mezcla, los componentes, excepto el ADN, permanecen en la solución mientras el ADN precipita en la capa de alcohol.
- 12.** Dejar la solución reposar por 2 a 3 minutos sin mover. Es importante no batir el tubo de ensayo. Se puede observar el ADN blanco el cual precipita en la capa de alcohol.
- 13.** Cuando se obtienen buenos resultados, habrá suficiente ADN para levantar con una varilla de vidrio (el ADN se enrolla a la varilla). O usando una pipeta de Pasteur que haya sido calentada en la punta para formar un gancho, se puede recuperar (tomar) algo de ADN. El ADN tiene la apariencia de mucus blanco y fibroso.