

Extracción "casera" de ADN

(y comparación con el protocolo normalizado)

(Práctica de José A. Cortés)

La presente práctica se puede realizar perfectamente en una cocina normal de una casa. Es más, en un laboratorio de un centro de enseñanza media es frecuente que no se disponga de aparatos o reactivos necesarios para llevarla a cabo y que, por el contrario, siempre hay en una cocina (nevera con congelador, batidora, hielo, etc.)

MATERIAL Y REACTIVOS

- Muestra vegetal
- Agua (destilada o mineral)
- Sal de mesa
- Bicarbonato sódico
- Detergente líquido o champú
- Alcohol isoamílico a 0°C
- Batidora
- Nevera
- Colador o centrífuga
- Vaso
- Tubo de ensayo
- Varilla fina

FUNDAMENTO

La extracción de ADN de una muestra celular se basa en el hecho de que los iones salinos son atraídos hacia las cargas negativas del ADN, permitiendo su disolución y posterior extracción de la célula. Se empieza por lisar (romper) las células mediante un detergente, vaciándose su contenido molecular en una disolución tampón en la que se disuelve el ADN. En ese momento, el tampón contiene ADN y todo un surtido de restos moleculares: ARN, carbohidratos, proteínas y otras sustancias en menor proporción. Las proteínas asociadas al ADN, de gran longitud, se habrán fraccionado en cadenas más pequeñas y separado de él por acción del detergente. Sólo queda, por tanto, extraer el ADN de esa mezcla de tampón y detergente, para lo cual se utiliza alcohol isoamílico, probablemente el único reactivo de esta práctica que no suele haber en una cocina.

REALIZACIÓN

1. Preparar el tampón con los siguientes ingredientes y mantener en la nevera o en un baño de hielo triturado:
 - 120 ml de agua, si es posible destilada y si no mineral. No usar agua del grifo.
 - 1,5 g de sal de mesa, preferiblemente pura.
 - 5 g de bicarbonato sódico.
 - 5 ml de detergente líquido o champú.
2. Elegir la muestra que va a proporcionar el ADN entre los vegetales que pueda haber en la cocina (cebolla, ajo, tomates, etc.) y cortarla en cuadraditos.

3. Triturar la muestra con un poco de agua en la batidora accionando las cuchillas a impulsos de 10 segundos. Así se romperán muchas células y otras quedarán expuestas a la acción del detergente.
4. Mezclar en un recipiente limpio 5 ml del triturado celular con 10 ml del tampón frío y agitar vigorosamente durante al menos 2 minutos. Separar después los restos vegetales más grandes del caldo molecular haciéndolo pasar por un colador lo más fino posible. Lo ideal es centrifugar a baja velocidad 5 minutos y después pipetear el sobrenadante.
5. Retirar 5 ml del caldo molecular a un tubo de ensayo y añadir con pipeta 10 ml de alcohol isoamílico enfriado a 0°C. Se debe dejar escurrir lentamente el alcohol por la cara interna del recipiente, teniendo éste inclinado. El alcohol quedará flotando sobre el tampón.
6. Se introduce la punta de una varilla estrecha hasta justo debajo de la separación entre el alcohol y el tampón. Remover la varilla hacia delante y hacia atrás y poco a poco se irán enrollando los fragmentos de mayor tamaño de ADN. Pasado un minuto retirar 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 e impiden que se unan al ADN.