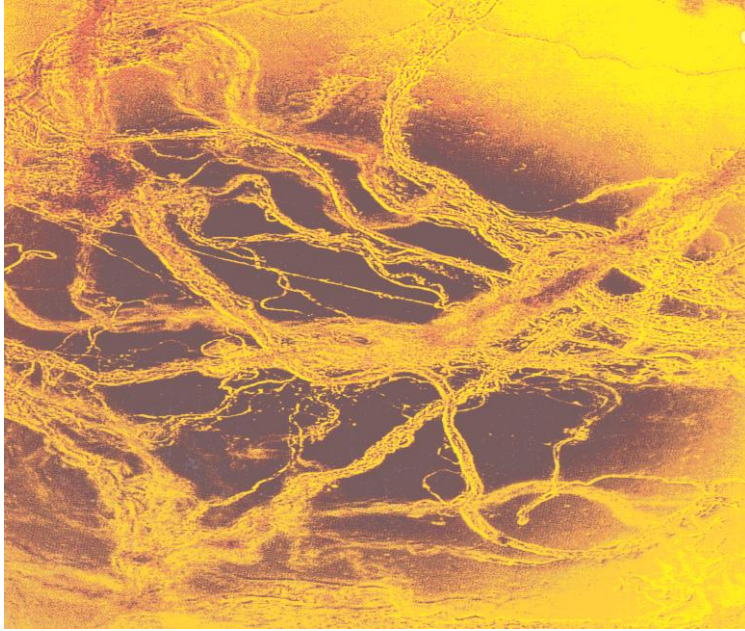


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
COLEGIO DE CIENCIA Y HUMANIDADES



ACTIVIDAD DIDÁCTICA EXPERIMENTAL:

“EXTRACCIÓN Y AISLAMIENTO DEL ADN DE CÉLULAS
VEGETALES Y ANIMALES”

EN APOYO AL PROGRAMA DE BIOLOGÍA I

SEGUNDA UNIDAD

¿CÓMO SE LLEVA A CABO LA REGULACIÓN, CONSERVACIÓN Y
REPRODUCCIÓN DE LOS SISTEMAS VIVOS?

TEMA II. PROCESOS DE CONSERVACIÓN.
REPLICACIÓN DEL ADN: ASPECTOS GENERALES E IMPORTANCIA

DISEÑÓ: M. EN E. MA. ELENA DÁVILA CASTILLO

2008

I. INTRODUCCIÓN

El Ácido Desoxirribonucleico (ADN), es el material genético de todos los sistemas vivos y de casi todos los virus. Es el ADN quien lleva la información necesaria para dirigir la síntesis de proteínas y la duplicación de la misma molécula. Esta biomolécula fue detectada en el núcleo celular por el investigador F. Miesher en 1869 y desde los años cuarenta O. Avery y sus colaboradores descubrieron que el material genético está formado de ADN.

En las últimas décadas, la Biología se ha enriquecido con una variedad de técnicas que han permitido la posibilidad de entender con mayor precisión, estructuras, funciones, mecanismos o fenómenos de los sistemas vivos.

La manipulación del ADN, es uno de los ejemplos más espectaculares del avance de la aplicación de una serie de herramientas en Biología, que anteriormente no se contemplaban en el campo científico, y en la actualidad se usan de manera rutinaria para desarrollar una amplia variedad de estudios genéticos.

Para estudiar el ADN es imprescindible aislarlo e identificarlo. Existen diferentes métodos de aislamiento, dependiendo del tipo de estudio o investigación que se quiera realizar. Sin embargo, todos los métodos comparten el hecho de que es una molécula situada al interior de estructuras membranosas y está asociada con proteínas, entonces se requiere usar sustancias adecuadas para obtener al ADN de la forma más purificada posible.

La técnica utilizada en esta actividad experimental, se basa por un lado, en el principio de que el componente fundamental de las membranas plasmática y nuclear, son los lípidos, en consecuencia, se utiliza un detergente (surfactante) para romper estas estructuras y permitir la salida del ADN. Por otro lado, el ADN de vegetales y animales se encuentra asociado a proteínas de tipo histona, por lo tanto, al agregarle alcohol, se precipitan las proteínas y de esta forma se obtiene el ADN como una estructura más pura. Finalmente, como el ADN es una molécula de carácter ácido, es posible identificarlo con colorantes específicos como el anaranjado de acridina.

II. OBJETIVOS

- ✿ Efectuar la técnica de extracción y aislamiento de ADN en chícharos y en hígado de pollo para visualizar el aspecto real y diferenciarlo del Modelo del ADN propuesto por Waston y Crick.
- ✿ Profundizar la comprensión de conceptos relacionados con los aspectos generales e importancia de la replicación del ADN.
- ✿ Promover el desarrollo de habilidades, actitudes y destrezas al llevar a cabo la actividad experimental.

III. MATERIAL Y EQUIPO

<ul style="list-style-type: none">○ 2 probetas graduadas de 50 ml.○ 1 varilla de vidrio.○ 1 portaobjetos.○ 1 cubreobjetos.○ 1 vaso de precipitados de 50 ml.○ 1 caja de Petri.○ 1 gotero.	<ul style="list-style-type: none">○ 1 mortero.○ 1 bisturí.○ 1 aguja de disección.○ 1 balanza granataria.○ 1 microscopio de contraste de fases.○ 1 coladera fina o gasas (10 x 10 cm.).
---	---

Recomendación: Lavar el material, si se utiliza más de una vez

IV. Material Biológico

- ▶▶ 10 g de chícharos.
- ▶▶ 2 g de hígado de pollo o de ternera.

V. SUSTANCIAS

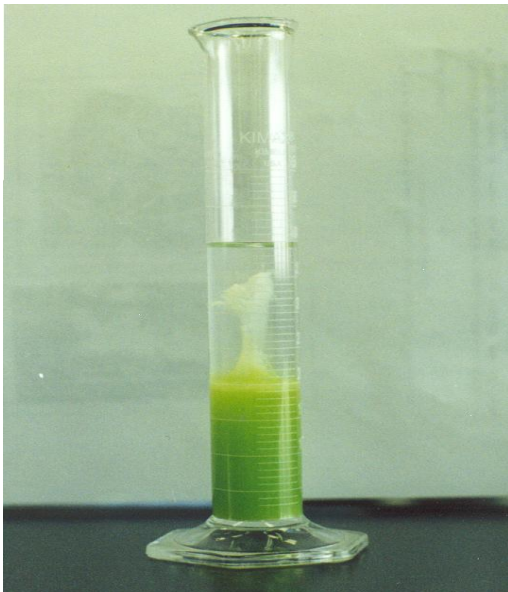
- ▶▶ 10 ml. de agua desionizada o destilada.
- ▶▶ 20 ml. de desoxicolato de sodio (1 g. de desoxicolato en 60 ml. de agua destilada o desionizada). **Nota: Se puede sustituir el desoxicolato por detergente Roma.**
- ▶▶ 20 ml. de etanol absoluto o al 95% FRIO (el alcohol debe estar a 4 °C por lo menos 1 hora antes de iniciar la actividad y permanecer en hielo durante todo el experimento).
- ▶▶ Colorante Anaranjado de Acridina.

VI. PROCEDIMIENTO

1. Desvainar los chícharos o cortar un trozo pequeño de hígado con la ayuda de un bisturí.
2. Pesar en una caja de Petri 10 g de chícharos o 2 g de hígado.
3. Triturar en un mortero el hígado o los chícharos con 10 ml de agua desionizada o destilada hasta que quede una masa homogénea y semilíquida.
4. Filtrar el sobrenadante obtenido en cada trituración en el vaso de precipitados con ayuda de una coladera o a través de una gasa.
5. Verter el líquido en una probeta, añadir 20 ml. de desoxicolato de sodio y agitar SUAVEMENTE con la varilla de vidrio. Anotar lo que sucede.
6. Incorporar LENTAMENTE 20 ml de etano,l resbalando por las paredes de la probeta y esperar por lo menos dos minutos para observar unos filamentos blanquecinos de “ADN” extraído por esta técnica (**Ver Figura 1a y 1b**), algunos de estos **filamentos** quedan adheridos a la varilla de vidrio. **SOLO**

SI ES NECESARIO, AGITAR LENTAMENTE EN FORMA ROTATORIA Y EN LA MISMA DIRECCIÓN.

7. Tomar una muestra de los filamentos blanquecinos con una aguja de disección, con la varilla de vidrio, o con un gotero y colocarlos sobre el portaobjetos.
8. Añadir una gota de colorante anaranjado de acridina, y colocar el cubreobjetos.
9. Observar los filamentos al microscopio, con los objetivos 10x y 20x (**Ver**



b) ADN de Hígado de pollo



Figura 1. a) ADN de chícharo

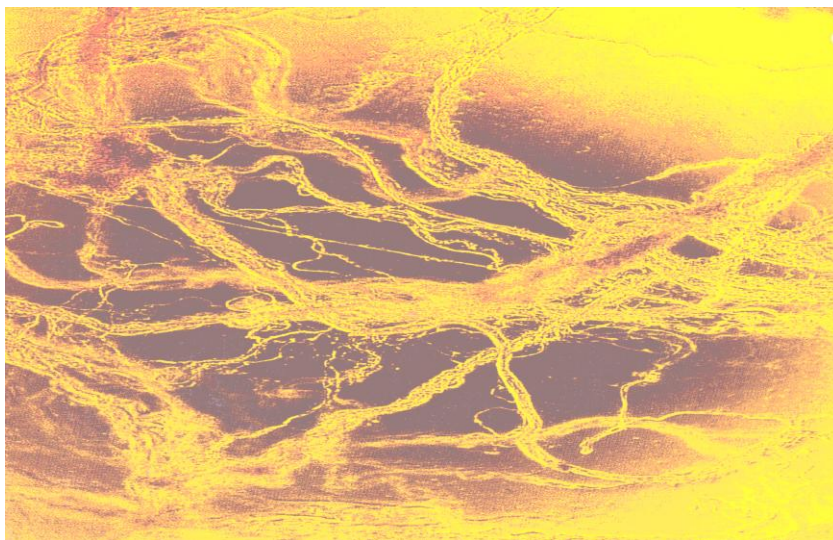


Figura 2 . Filamentos de ADN observados al microscopio con el objetivo 20X

VII. RESULTADOS Y ANÁLISIS

- Esquematice el procedimiento que utilizó para extracción y aislamiento del ADN.
- Dibuje lo observado en el microscopio con los objetivos de 10x y 20x.

VIII. PREGUNTAS PARA DISCUSIÓN

1. ¿Para qué se utilizó el desoxicolato de sodio y etanol en esta técnica?.
2. ¿Cómo se puede determinar que lo que se obtuvo mediante esta técnica fue ADN y no proteínas u otras sustancias?.
3. ¿Qué diferencias encuentran entre lo observado en la actividad experimental y el Modelo de ADN propuesto por Watson y Crick?.
4. ¿Cuál es la función del ADN en los sistemas vivos?.
5. Explica en qué consiste la replicación del ADN
6. ¿Qué importancia presenta para los sistemas vivos que la replicación del ADN sea “semiconservadora”

IX. CONCLUSIONES

X. BIBLIOGRAFÍA

- 📖 Alberts, B., et al. 1998. Biología Molecular de la Célula. 4ª Edición. Omega. España.
- 📖 Audesirk, T. y Audesirk, G. 2003. Biología: La Vida en la Tierra. 6ª Edición Prentice Hall. México.
- 📖 Arambarri, G. R., López, M. R., Méndez V., A., Rodríguez, A. J. y Torres, J. J. 1998. Paquete Didáctico de Genética para Biología I y II. Laboratorio LACE SILADIN. Colegio de Ciencias y Humanidades. Plantel Oriente. UNAM. pp. 85-91.
- 📖 Bernstein, R. y Bernstein S. 2001. Biología. Mc. Graw-Hill.
- 📖 Curtis, H. y Barnes N. S. 1997. Invitación a la Biología. 5ª. Edición. Editorial Médica Panamericana. España.
- 📖 Dávila, C. M. E. y Marmolejo S. C. 2000. Extracción de ADN de Células Animales y Vegetales. Colegio de Ciencias y Humanidades. Plantel Naucalpan. UNAM.
- 📖 Mendiola, R. G. 1999. Aislamiento del ADN en Células Animales y Vegetales. Colegio de Ciencias y Humanidades. Plantel Naucalpan. UNAM.
- 📖 Velasco, S. J. y Merchán, M. 1998. Biología y Ecología. Editex. España.