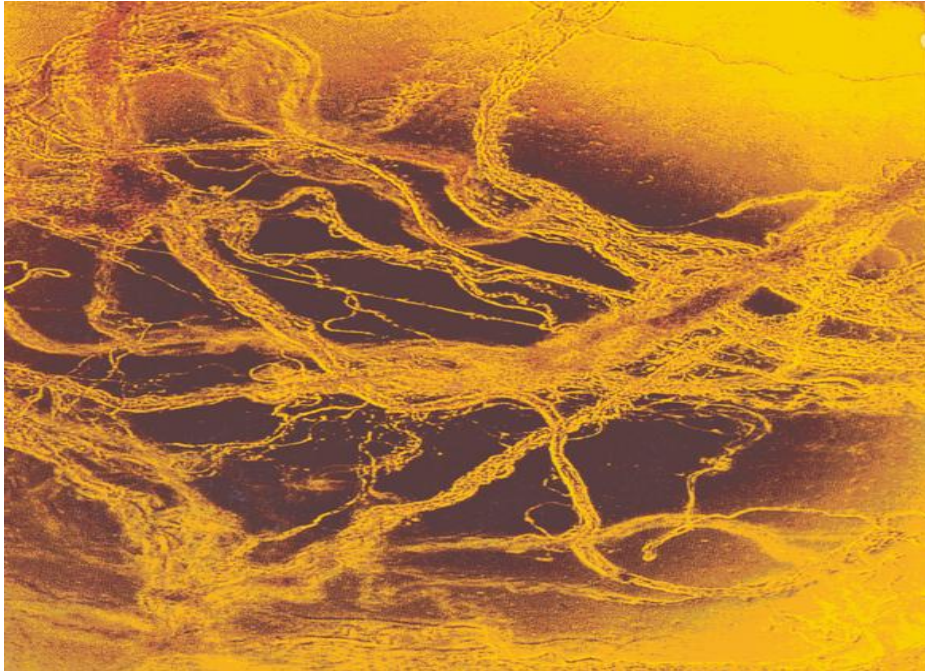




EXTRACCIÓN DE ADN

Biología Experimental



BIOLOGÍA I

TERCERA UNIDAD

¿CÓMO SE TRANSMITE Y MODIFICA LA INFORMACIÓN GENÉTICA EN LOS SISTEMAS VIVOS?

Aprendizajes

- Describe la tecnología del ADN recombinante y sus aplicaciones.
- Aplica habilidades y actitudes, al diseñar y llevar a cabo investigaciones documentales y experimentales que contribuyan a la comprensión de la transmisión y modificación de las características hereditarias.
- Comunica de forma oral y escrita la información derivada de las actividades realizadas.



Tema II. La ingeniería genética y sus aplicaciones. **Aspectos generales de la tecnología del ADN recombinante.**

Nombre: _____ grupo _____

EXTRACCIÓN DE ADN

I. INTRODUCCIÓN

El Ácido desoxirribonucleico (ADN), es el material genético de todos los organismos 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, que anteriormente no se contemplaban en el campo científico y que 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 estudios o investigación que se quiera realizar. Sin embargo todos comparten el hecho de que, debido a que la molécula se encuentra al interior de estructuras membranosas y está asociada con proteínas, 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, por lo cual 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 al ADN como una estructura más pura. Finalmente, se conoce que el ADN es una molécula de carácter ácido, lo que le permite ser identificada con colorantes específicos como el anaranjado de acridina.



II. OBJETIVOS

-  Efectuar la técnica de extracción y aislamiento de ADN en hígado de pollo y en chícharos para visualizar el aspecto real de este tipo de ácido nucleico.
-  Diferenciar entre el Modelo del ADN propuesto por Waston y Crick y el aspecto real del ácido desoxirribonucleico extraído por esta técnica.
-  Comprender que esta técnica, es sólo el inicio de otras que se aplican en el ámbito científico para resolver problemas de genética humana y mejoramiento de razas y variedades.
-  Profundizar la comprensión de conceptos relacionados con la Ingeniería genética y sus aplicaciones y promover el desarrollo de habilidades y destrezas.

III. MATERIAL Y EQUIPO

(Si se utiliza dos veces el mismo material, cuidar que esté limpio)

<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 digital o granataria.☞ 1 microscopio de contraste de fases.☞ 1 coladera fina (traer de su casa).
---	--

IV. Material Biológico

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

V. SUSTANCIAS

- ▶▶ 10 ml. de agua desionizada o destilada.
- ▶▶ 20 ml. de solución de desoxicolato de sodio (disolver 1 g. de desoxicolato en 60 ml. de agua destilada o desionizada).
*(Nota: Se puede sustituir el desoxicolato por el 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. Cortar un trozo pequeño de hígado con la ayuda de un bisturí o desvainar algunos chícharos.
2. Pesarse en una caja de Petri 2 g. de hígado o 10 g. de chícharos.
3. Triturar en un mortero el hígado o los chícharos con agua desionizada o destilada.
4. Separar el líquido obtenido en cada trituración en el vaso de precipitados con ayuda de una coladera.
5. Verter el líquido en una probeta, añadir 20 ml. de solución de desoxicolato de sodio (o solución de detergente **Roma**) y agitar SUAVEMENTE con la varilla de vidrio.
6. Incorporar LENTAMENTE el etanol y esperar por lo menos dos minutos para observar unos filamentos blanquecinos que es el "ADN" extraído por esta técnica (**Ver Figura 1**), algunos de estos **filamentos** quedan adheridos a la varilla de vidrio. AGITAR LENTAMENTE EN FORMA ROTATORIA, SÓLO SI ES NECESARIO.
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 anaranjado de acridina y colocar el cubreobjetos.
9. Observar los filamentos del ADN al microscopio con los objetivos 10x y 20x (**Ver Figura 2**)

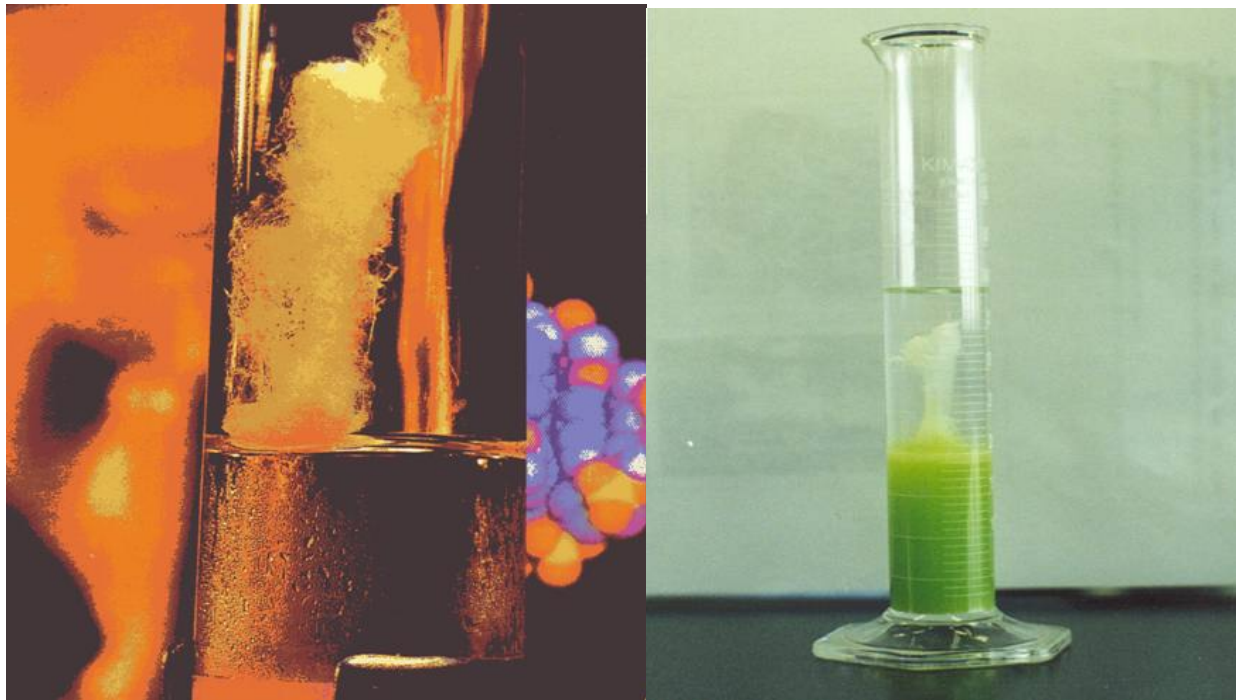


Figura 1. a) ADN de hígado de pollo. b) ADN de chícharo.

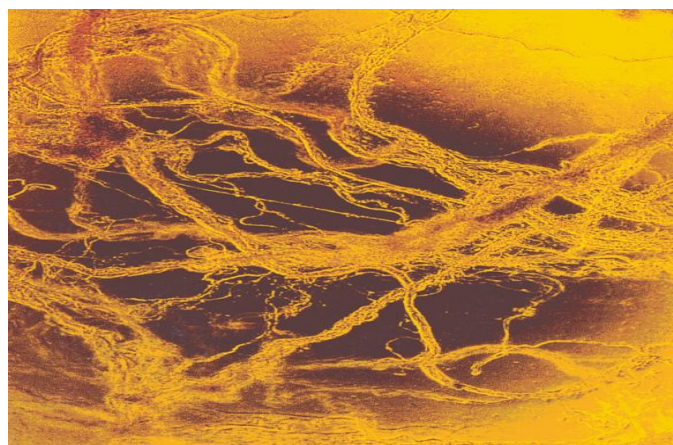


Figura 2. Filamentos de ADN (20x)



10. VII. RESULTADOS Y ANÁLISIS

- ▶ **ESQUEMATICE EL PROCEDIMIENTOS 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. Describa e ilustre el experimento de Hershey y Chase (1952), para demostrar que el ADN era la clave de la herencia.
4. Explique brevemente en qué consiste el Modelo de ADN de Waston y Crick y cómo contribuyó en el desarrollo de la Ingeniería Genética.
5. Describa los aspectos generales y esquematice cada una de las siguientes técnicas:
 - a) ADN Recombinante.
 - b) Formación de Organismos Transgénicos.
 - c) Clonación de Organismos
 - d) Terapia Génica
6. Diga algunas ventajas y desventajas (implicaciones bioéticas) del Proyecto del Genoma Humano y de la clonación de organismos.

IX. CONCLUSIONES



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., Médicis 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 Naucapan. UNAM.
- ☞ Mendiola, R. G. 1999. **Aislamiento del ADN en Células Animales y Vegetales**. Colegio de Ciencias y Humanidades. Plantel Naucapan. UNAM.
- ☞ Velasco, S. J. y Merchán, M. 1998. **Biología y Ecología**. Editorial Editex. España.