
EXTRACCIÓN DE DNA

Experimento con reactivos de la vida cotidiana

Laura Martínez Martín- 1º Grado Genética - UAB



Abril de 2015

Índice

	Pág.
Introducción	3
Objetivos.....	3
Material.....	3
Procedimiento	4
Explicaciones científicas del procedimiento	8
Valoración personal	11
Webgrafía	12

Introducción

Todo organismo vivo está formado por la ampliamente estudiada y conocida molécula de DNA. Sabemos que los organismos vivos provienen de una única célula ancestral llamada LUCA. Este hecho nos indica que entre organismos vivos compartimos mucho más de lo que a veces nos podríamos llegar a imaginar. Por ejemplo, los humanos compartimos el 50% del DNA con el plátano. Sin embargo, el porcentaje de DNA que compartimos depende de cómo se mida. Si medimos secuencias idénticas de pares de bases, entonces es bastante bajo, pero si nos fijamos en los genes con funciones idénticas o similares entonces es de hecho el 50 %. Algunas de las cosas para las que estos genes



codifican son de bioquímica básica: la replicación del DNA, la transcripción, la traducción, el metabolismo del DNA (recombinación, reparación), el metabolismo de la célula (catabolismo y anabolismo) y la regulación del ciclo celular (mitosis). Este tipo de genes son nombrados por los biólogos como “secuencias conservadas”.

Para poder estudiar esta molécula con detalle se precisa generalmente su aislamiento de la célula, y para ello es necesario un conjunto de material e instrumentos de laboratorio complejos. Lo que este experimento pretende es un acercamiento simple y sencillo a la técnica de extracción de DNA que se puede realizar en cualquier hogar con materiales de la vida cotidiana.

a) Objetivos

Aislar y observar el DNA de un plátano con reactivos caseros.

b) Material

- Plátano
- Piña
- Fairy (o detergente)
- Agua destilada
- Sal
- Agua
- Etileno 95° (2 horas en el congelador)
- Balanza
- Probeta
- Barilla agitadora
- Vaso de precipitados
- Erlenmeyer
- Termómetro
- Colador y filtro
- Embudo
- Tubos de ensayo
- Pipeta Pasteur
- Batidora

Procedimiento

1. **Trituración del plátano:** Con la ayuda de un cuchillo cortamos unos 100g de plátano y lo troceamos hasta obtener porciones muy pequeñas. Después aplastamos todos los trozos con un tenedor para formar una pasta más o menos homogénea. Depositamos esta pasta en un vaso de precipitados.



2. **Preparación de la solución de extracción:** Primero pesamos con la balanza 3g de sal. Con una probeta preparamos 100ml de agua destilada y 10ml de Fairy. A continuación lo mezclamos todo en un erlenmeyer procurando no formar muchas burbujas.



3. **Detergente + plátano:** Vertemos el detergente en el vaso de precipitados que contiene el plátano y lo mezclamos todo procurando de nuevo no hacer muchas burbujas.



-
4. **Baño caliente:** Ponemos agua a calentar y con un termómetro medimos la temperatura hasta que alcance unos 60°C aproximadamente. Después introducimos el vaso de precipitados con la mezcla y vamos removiendo durante unos 15' con la ayuda de una barita agitadora. Hay que procurar mantener la temperatura en los 60°C y no hacer muchas burbujas.



5. **Baño frío:** Preparamos un recipiente con agua y hielo e introducimos el vaso de precipitados. Lo dejamos en estas condiciones durante 5' removiendo constantemente.



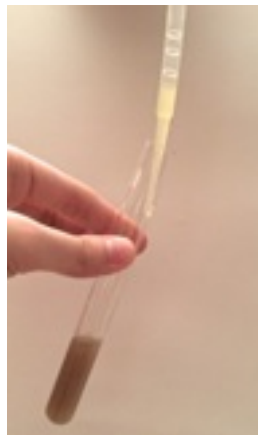
6. **Preparación del zumo de piña:** Mientras esperamos que pasen los 5' del baño frío preparamos el zumo de piña. Troceamos una piña y trituramos la parte central o corazón en la batidora. Filtramos la pasta con un colador para obtener el zumo.



-
7. **Filtración de la solución:** Preparamos un erlenmeyer con un colador encima y vertemos el contenido del vaso de precipitados. A continuación preparamos un embudo con un papel de filtro encima y vertemos la solución obtenida anteriormente recogiendo el líquido en un tubo de ensayo. Este segundo proceso puede tardar unos minutos.



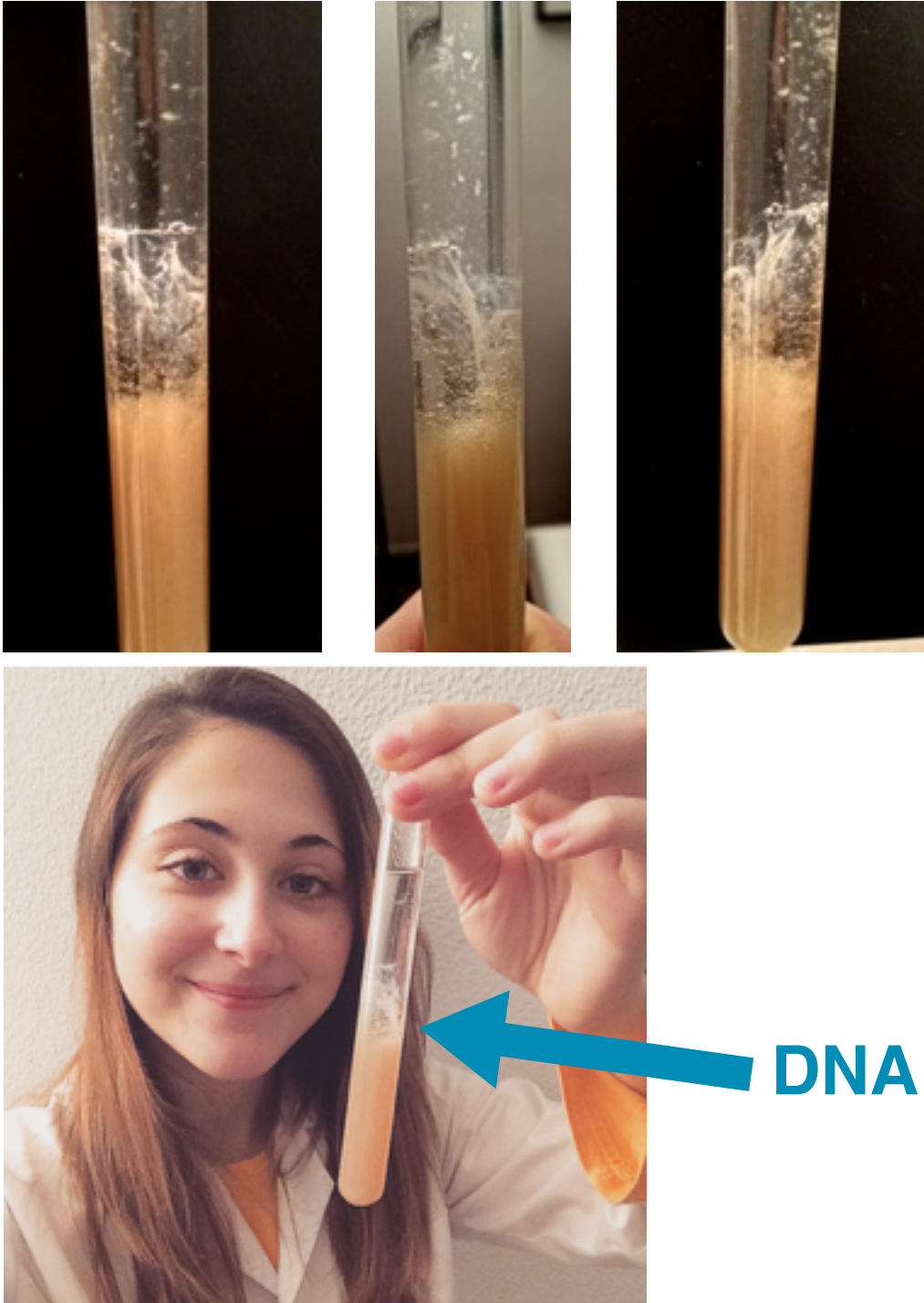
8. **Solución + zumo de piña:** Con una pipeta Pasteur cogemos 1ml de zumo de piña y lo añadimos a 5ml del extracto en un tubo de ensayo. Dejamos que actúe el zumo en la solución de 2 o 3'.



9. **Solución + alcohol:** Sacamos el alcohol del congelador y preparamos en un tubo de ensayo aproximadamente el mismo volumen de alcohol que de la solución de interés.



10. Observación del DNA: Vertemos muy lentamente el alcohol en el tubo de ensayo con la solución. Al cabo de pocos segundos seremos capaces de observar tres capas bien diferenciadas. Encima de todo estará el alcohol, debajo de todo estarán los restos celulares (membranas, orgánulos) del plátano y los otros componentes de la solución y, en la interfase observaremos una especie de hilos blancos rodeados de burbujas. ¡Eso es el DNA!⁽¹⁾



(1) El procedimiento de extracción de DNA es en realidad un procedimiento de extracción de ácidos nucleicos así que lo que estamos observando es una mezcla de RNA y DNA.

Explicaciones científicas del procedimiento

El DNA se encuentra en el interior del núcleo de las células eucariotas rodeado de proteínas (histonas) que lo mantienen unido y compactado. Para poder aislarlo y observarlo se deben deshacer la membrana plasmática y la envoltura nuclear y también se precisa la desnaturalización de las proteínas. A continuación se explicará qué pasos del procedimiento explicado anteriormente son los encargados de realizar estas funciones y también se aclarará el por qué de cada paso.

- Trituración del plátano: Incrementar el área superficial del plátano ayuda a hacer la superficie de la membrana más fácil de disolver y también permite una absorción más efectiva del calor y de las soluciones que se añadirán.

- Detergente: Las membranas de las células están formadas por dos capas de lípidos con proteínas transmembrana a través de estas. El detergente ayuda a romper la bicapa de fosfolípidos de las membranas plasmáticas y la envoltura nuclear (*Imagen 1*). Los lípidos de la membrana se descomponen debido al detergente que deshace las uniones que mantienen la membrana junta. Cuando el detergente se pone en contacto con los lípidos éstos se separan de la membrana rompiéndola. La estructura de los lípidos es similar a la del detergente y eso hace que se combinen, formando una burbuja de detergente y lípidos (*Imagen 2*).

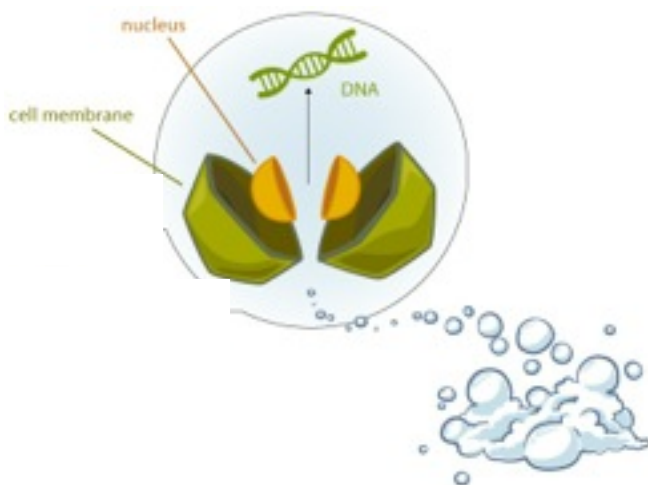


Imagen 1. Separación de la membrana plasmática, envoltura nuclear y la liberación del DNA

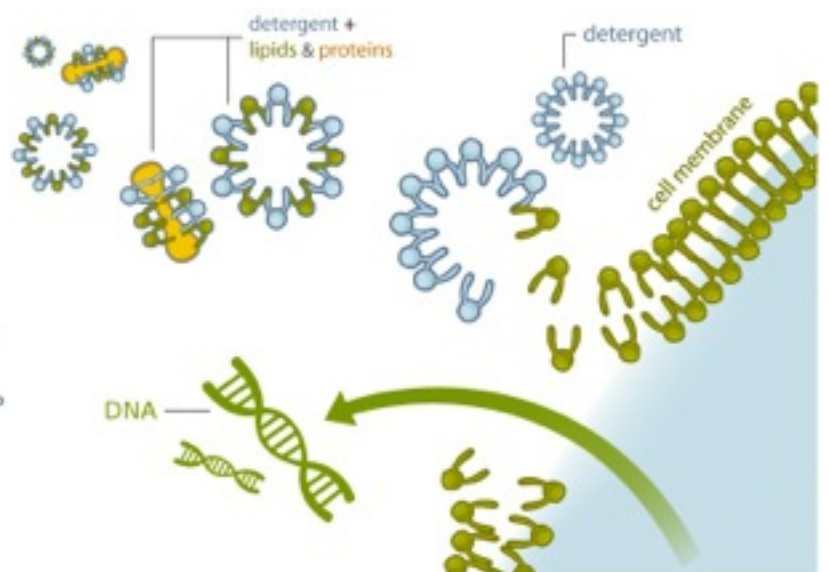


Imagen 2. Formación de burbujas entre el detergente y los fosfolípidos

- Baño caliente: Este paso se utiliza para liberar el DNA de sus barreras protectoras. La incubación se utiliza para acelerar el proceso de rotura de las membranas y para ayudar a disolver la bicapa de fosfolípidos mediante la desnaturalización de las proteínas de membrana y rotura de los enlaces que mantienen los fosfolípidos unidos. El calor “ablanda” la membrana.

- Baño frío: El agua fría ayuda a mantener el DNA intacto durante el proceso de extracción. El enfriamiento de la solución ayuda a prevenir la desnaturalización que podría destruir el DNA si se expusiera al calor de manera prolongada (protege el DNA de enzimas que pueden destruirlo como las DNAasas ya que la refrigeración ralentiza las reacciones enzimáticas).

- Homogeneización continua: Con este procedimiento conseguimos que la temperatura (tanto el calor como el frío) actúe sobre todo el contenido del extracto, y no sólo sobre las partes en contacto con el vaso de precipitados. También se consigue que la solución detergente pueda actuar sobre todo el triturado de plátano.

- Filtración: Este paso permite separar los restos de los tejidos del plátano y de las células que hemos roto en los pasos anteriores. Ese material no nos interesa y quedará retenido en el colador (los restos más grandes) o en el filtro (restos más pequeños). El líquido filtrado que conseguimos es el que contiene el DNA libre de la membrana nuclear.

- Zumo de piña: Las moléculas de DNA están rodeadas de proteínas del tipo histonas, y para obtener un extracto más puro de DNA es necesario eliminarlas. Para ello hay que utilizar enzimas proteolíticas. El zumo de piña contiene bromelaína, una enzima capaz de hidrolizar las proteínas y por tanto capaz de separar el DNA de las histonas (*Imagen 3*). Este proceso ayuda a que el DNA se desempaquete y es más fácil su extracción.

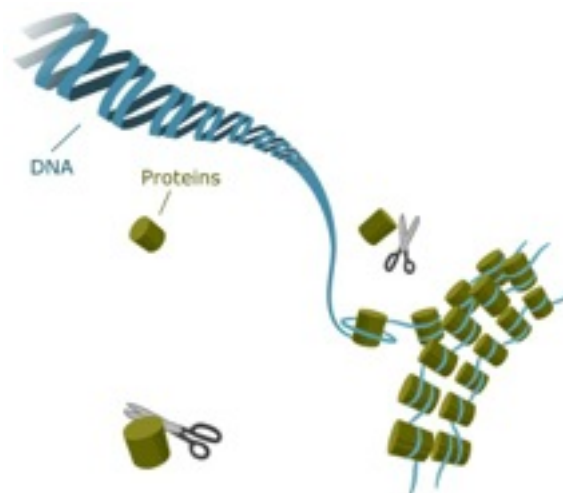


Imagen 3. Rotura de las histonas y liberación del DNA

- Alcohol congelado: El DNA es una molécula polar, pero la reacción con el etanol a muy baja temperatura hace que se vuelva apolar e insoluble en el etanol formándose un precipitado justo entre la capa con etanol líquido y la capa con el extracto. El DNA es el único componente de la solución que no es soluble en el etanol, y se hace visible porque las diferentes cadenas se van aglutinando entre sí al precipitar debido a la acción de fuerzas físicas. El alcohol es menos denso que el agua del extracto y por eso flota sobre la capa del extracto.

- Sal en la solución de extracción: La molécula de DNA es soluble en agua y por tanto invisible, pero si se pone en contacto DNA que haya estado en un medio salado y alcohol frío el DNA se vuelve insoluble y precipita. Por lo tanto el agua salada ayuda a la precipitación en el alcohol. La sal también ayuda a separar el DNA de las histonas.

Valoración personal

Antes de descubrir este experimento no me hubiera imaginado que extraer DNA de un organismo vivo fuera tan sencillo y mucho menos usando ingredientes que tenemos en casa como el Fairy, la sal o la piña.

El procedimiento no permite una purificación completa del DNA, es más, lo que observamos no es únicamente DNA sino una mezcla de ácidos nucleicos (RNA y DNA). Por una parte sé que he obtenido DNA ya que es lo que dicen las páginas webs que he consultado y los resultados se corresponden con estas, pero por otro lado me sigue quedando la duda de si realmente los hilos blancos que observo son ácidos nucleicos. Supongo que necesitaría realizar otro protocolo que me permitiera teñir específicamente ácidos nucleicos y estaría bien si dispusiera del material necesario para manipularlo y realizar más experimentos con él. A pesar de esto me ha gustado realizar un experimento en casa y, además, en menos de una hora.

A partir de aquí me surgen dudas como por ejemplo, ¿si hubiera usado otro organismo con más cromosomas hubiera obtenido más DNA? o, ¿podría realizar este experimento con células humanas o se requieren procesos más complejos? ¡Tendré que seguir investigando para encontrar la solución!

Webgrafia

- <http://learn.genetics.utah.edu/content/labs/extraction/>
- <http://learn.genetics.utah.edu/content/labs/extraction/howto/>
- <http://www.scientificamerican.com/article/find-the-dna-in-a-banana-bring-science-home/>
- http://www.funsci.com/fun3_en/dna/dnaen.htm
- http://classic.sidwell.edu/us/science/vlb5/Labs/DNA_Extraction_Lab/dna_extraction_lab.html
- <http://leadersk.tripod.com/>
- http://www.biologyjunction.com/extracting_dna.htm