

## Laboratorio B No.10

### **EXTRACCION DE ADN.**

El ADN es un dímero antiparalelo de hebras de ácido nucleico. Está formado por nucleótidos que contienen el azúcar desoxirribosa. La desoxirribosa no presenta grupo hidroxilo en la posición 2'. Las cadenas de ADN están polimerizadas mediante enlaces fosfodiéster entre el grupo hidroxilo 3' de una subunidad y el grupo hidroxilo 5' de la siguiente. Por tanto, el ADN es una cadena lineal de desoxirribosa 3', 5'-fosfato con bases de purinas y pirimidinas unidas al carbono 1' de la subunidad de desoxirribosa.

Utilizando fotografías de difracción de rayos X del ADN tomadas por Rosalind Franklin en 1953, James Watson y Francis Crick, propusieron un modelo de estructura para el ADN. Según este modelo, el ADN estaba formado por dos hebras entrelazadas, complementarias y unidas mediante enlaces de hidrógeno. La simplicidad básica de esta estructura hizo que fuera aceptada rápidamente. Aunque algunos de los detalles del modelo se han modificado, sus elementos esenciales no han variado de los propuestos originalmente.

Tal como le presentan originalmente Watson y Crick, el ADN está formado por dos hebras, enrolladas una con la otra formando una estructura helicoidal diestra, con los pares de bases en el centro y las cadenas de desoxirribosil fosfato en la parte externa. La orientación de las hebras de ADN es antiparalela, es decir, las hebras discurren en direcciones opuestas. Las bases de nucleótidos de una hebra interactúan con las bases de nucleótidos de la otra, formando pares de bases. Los pares de bases son planos y están orientados casi perpendicularmente al eje de la hélice. Cada par de bases está formado por enlaces de hidrógeno entre una purina y una pirimidina. La Guanina forma tres enlaces de H con la Citosina, y la Adenina forma dos con la Timina.

A causa de la especificidad de esta interacción entre purinas y pirimidinas en las hebras opuestas del ADN, se dicen que estas tienen unas estructuras complementarias. La alta estabilidad de la doble hélice del ADN se debe a la fuerza combinada de los numerosos enlaces de hidrógeno formado entre las bases de las hebras opuestas y de las interacciones hidrofóbicas entre las bases. Aunque los enlaces de hidrógeno entre las hebras están afectados por temperatura y la fuerza iónica, a temperatura ambiente ya pueden formarse unas estructuras complementarias estables con tan solo 6-8 nucleótidos

#### **Materiales: por mesa de grupo)**

2 fresas grandes o 4 pequeñas

2 vasos plásticos transparentes

2 cucharitas plásticas

2 gasas finas (filtro de café)  
½ cucharada de sal  
Detergente líquido para platos (no de ropa)  
15 cc de Agua purificada.  
Una botellita de 120 ml de alcohol al 70%, frío  
2 a 3 Varillas de madera (hisopos)  
1 bolsa plástica (ziploc)  
1 hule

#### **A. PROCEDIMIENTO DE CÉLULAS Y NÚCLEOS.**

- a. En un vaso agregar una pizca de sal, 2 cucharadas de detergente líquido. 15 ml de agua. Mezclar (**Buffer de extracción**)
- b. Colocar las fresas dentro de una bolsa plástica. Utilice su puño para triturar suavemente las fresas durante tres minutos. Esto comenzará el rompimiento de las células (**Maceración**).
- c. Agregar aproximadamente 10 ml de buffer de extracción a la bolsa con fresas. Presione la bolsa para remover el aire dentro de ella y ciérrela. Continúe triturando suavemente las fresas durante un minuto (trate de no generara espuma). Esto continuará con la degradación de las células y el núcleo.
- d. Coloque el papel filtro o gasa sobre el vaso plástico y sujételo con el hule. Corte la esquina de la bolsa plástica y vierta la mezcla de fresas despacio sobre el vaso, dirigiendo el líquido con la varilla de madera.
- e. Una vez que en la base tenga suficiente líquido (un dedo de altura es suficiente, no más de ¼ de su capacidad) pare la filtración. Recuerde cerrar su bolsa antes de dejarla de usar. El paso de la filtración es necesario para capturar los materiales celulares largos. El extracto de ADN se ha filtrado al vaso.

#### **B. PRECIPITACIÓN Y AISLAMIENTO DE ADN.**

- a. Agregar suavemente el etanol frío por las paredes del vaso al extracto celular. La capa de etanol debe quedar por arriba del extracto. Usted verá que se forman dos capas. El etanol ayuda la precipitación del ADN. Verá que se comienza a formar un material fibroso blanco en la interfase de las capas.
- b. Inserte la varilla de madera hasta llegar a la interfase entre el etanol y el extracto, gire la varilla para que la molécula de ADN comience a enrollarse sobre ella. De esta manera el ADN empezará a parecerse a algodón blanco.
- c. Remueva el agregado blanco y vuelva hacer el procedimiento anterior, seguirá extrayendo ADN.
- d. Lávese las manos y limpie su lugar de trabajo, poniendo todos los materiales en la bolsa negra de basura. Asegúrese que la bolsa de extracto esté bien cerrada.