

Laboratorio de Bioquímica Médica I
Actividades Prácticas de Aprendizaje Autónomo

Aislamiento de DNA

Sustancias

Sal de mesa
Bicarbonato de sodio
Shampoo o detergente líquido
Agua destilada
Alcohol isopropílico
Muestra de verdura o fruta

Equipo

Refrigerador
Licuadora
Jeringa de 10 ml
Papel filtro o tela
Recipientes limpios
Palillos o agitador de madera

Protocolo

- En un recipiente de vidrio limpio colocar 120 ml de agua destilada, agregar aproximadamente 1.5 g de sal de mesa, 5 g de bicarbonato de sodio y 5 ml de shampoo o detergente líquido, preferentemente sin color. Mezclar y conservar en el refrigerador, junto con el alcohol isopropílico, durante 24 horas antes de usarlo.
- Lava perfectamente la fruta o verdura y elimina la cubierta.
- Corta la muestra en trozos pequeños y colócala en el vaso de la licuadora, añade un poco de agua destilada (aproximadamente 150 ml) y licua, prendiendo la licuadora varias veces, en lapsos de 10 segundos.
- Coloca 5 ml del licuado en un recipiente de vidrio limpio y añada 10 ml de la mezcla preparada en el inciso 1. Mezcla por inversión por lo menos durante 2 minutos.
- Cuela la mezcla con papel filtro o a través de un trozo de tela, para eliminar los restos sólidos y obtener el contenido de las células.
- El filtrado se coloca en un recipiente de vidrio transparente angosto y pequeño (por ejemplo una botella de especies, o una copa pequeña).
- Usando una jeringa, deposita 2 volúmenes de alcohol isopropílico frío sobre la solución, permitiendo que el alcohol baje lentamente por las paredes del recipiente, para formar dos capas. En la interfase se acumula el DNA en forma de hebras blancas.
- Inserta cuidadosamente un palillo a través de la capa de alcohol, de modo que quede suspendido justo abajo de la separación del alcohol y la solución de filtrado, rotándolo lentamente; para que las fibras de DNA se adhiera al palillo y extráelo cuidadosamente.
- Disuelve las fibras de DNA adheridas al palillo en un recipiente de vidrio limpio con agua destilada.
- Repite la operación anterior hasta retirar la mayor cantidad posible de DNA, tapa el recipiente que contiene el DNA puro y mantenlo en refrigeración. Esta será tu muestra problema en la práctica de Ácidos nucleicos.
- El DNA que permanece en el filtrado, se puede poner de manifiesto con un colorante como el azul de metileno, que colorea los fragmentos no recolectados de DNA.

Questionario

- ¿Cuál es la función de la sal y el bicarbonato, en la extracción del DNA?
- ¿Por qué es necesario licuar la muestra?
- ¿Qué propiedad del detergente se usa en el aislamiento del DNA?
- ¿Existe alguna forma de aumentar la precipitación del DNA?