



Práctica de ADN

Hoy en día son muchas las instituciones (tanto públicas como privadas) en las que las condiciones para trabajar en el laboratorio son precarias, varias son las razones; falta de espacio, no hay presupuesto para cubrir los gastos del laboratorio, entre otros. Sin embargo el docente con su gran compromiso y labor que cumple no debe conformarse con esto y no buscar soluciones a este tipo de inconvenientes que vemos a diarios, en el que los más afectados son nuestros estudiantes. Por tal motivo se realizará ésta práctica a partir de materiales caseros, una actividad que podrá ser aplicada a nivel de bachillerato e incluso en la universidad en donde probablemente el único reactivo de esta práctica que no suele haber en una cocina será el alcohol.

La extracción de ADN de una muestra celular se basa en el hecho de que los iones salinos son atraídos hacia las cargas negativas del ADN, permitiendo su disolución y posterior extracción de la célula.

Durante este trabajo práctico, se aislará ADN, a partir de células hepáticas y células vegetales una vez logrado este objetivo, se identificará el ADN por intermedio de la reacción de orceína acética.

Materiales y Sustancias

Estudiantes (materiales que deben llevar a la práctica)	Laboratorio
Cebolla morada, ajo porro o cebollín, hígado fresco de pollo o de res. El grupo debe traer UNA MUESTRA VEGETAL Y EL HÍGADO 120 mL de agua destilada. Sal yodada. Colador casero (de jugo) Alcohol. Detergente líquido. Hielo. Hisopos o palillos de dientes Ablandador de carne Iberia (o jugo de piña <u>SIN AZÚCAR</u>)	Licudadora, centrifuga o mortero. HCl 6N Aceto orceína.

Parte I- Extracción Casera del ADN

- Tomar la muestra asignada (ajo porro, cebollín, cebolla morada o hígado) y picar finamente.
- Colocar en un vaso de precipitado (debe estar frío).
- Agregar agua y 5 ml de detergente
- Luego añadir sal y por último el ablandador de carne
- Agitar y luego licuar por 5-10 segundos
- Tomar la mezcla y colocar en un colador casero
- Tomar 2 ml de la solución y añadir a un tubo de ensayo
- Agregar 1 ml de alcohol frío por el borde del tubo
- Espere unos minutos y observe cómo se forma una zona turbia entre las dos capas.
- Introduzca un agitador y, suavemente enganche con ella el material turbio. Éste debería convertirse en una especie de tela de araña hecha de fibras que puede retirarse del vaso. Esto es ADN.

II Parte.- Coloración del ADN

Una vez extraído el ADN se procede a realizar la hidrólisis ácida, la cual permite clarificar el citoplasma para su posterior coloración, para esto:

1.- Hidrólisis ácida: Coloca en el portaobjeto la muestra de ADN, agrega 2 gotas de HCl 6N por 20 minutos a 30 °C.

2.- Lava en agua por un minuto la muestra, sin que caiga directamente la corriente de agua, luego realiza 2 lavados en agua destiladas por un minuto.

3.- Coloca la muestra en aceto orceína por 10 minutos y luego lava con agua de chorro, decolora por 10 segundos en alcohol 70%, vuelve a lavar.

4.- Coloca un cubreobjeto a la muestra y observa a 40X y 100X.

(De igual manera puede emplearse hematoxilina, fucsina básica, aunque la ideal para colorear ADN es Feulgen)

Investiga: ¿Cuál es la reacción que debe ocurrir? ¿Cómo sabrás si tu muestra contiene ADN?

PARTE III- Cuerpos de Barr

Esta actividad permitirá diferenciar y observar el cuerpo de Barr en células de la mucosa bucal masculina y femenina.

Procedimiento (Gustafson y cols, 1996):

1. Enjuagar la boca repetidas veces con agua y raspar la mucosa interna de la mejilla con un hisopo o palillo de dientes.
2. Eliminar el primer raspado con un algodón y repetir la operación.
3. Preparar un frotis del segundo raspado sobre el portaobjetos.
4. Añadir una o dos gotas de la solución de aceto-orceína. Colocar un cubreobjetos. Eliminar el exceso de colorante y dejar actuar por 10 minutos.
5. Observar a seco débil hasta encontrar un campo en donde se localicen células. Observar después a inmersión para identificar el corpúsculo de Barr el cual se aprecia como una mancha oscura adherida a la membrana nuclear y que no desaparece al mover el tornillo micrométrico del microscopio.
6. Realizar observaciones comparando la cromatina masculina y femenina.
7. Dibujar lo observado.