



PRÁCTICAS DE LABORATORIO ANATOMÍA APLICADA.

OBTENCIÓN DE ADN DE TEJIDO EPITELIAL HUMANO

FUNDAMENTO

El ADN se encuentra en el interior del núcleo celular, disperso, muy replegado y unido a proteínas formando la cromatina. Para poder extraerlo es necesario romper las células y separar el núcleo para después romperlo y liberar el ADN. Una vez liberado el ADN es necesario separarlo de las proteínas y provocar la precipitación de éstas para poder extraer el ADN.

OBJETIVOS

- Extraer ADN de las células de la mucosa bucal
- Observar la estructura fibrilar y su grado de empaquetamiento dentro del núcleo celular.
- Comprender mejor la estructura del ADN
- Establecer la relación entre el proceso de extracción y las propiedades físico-químicas del ADN.

MATERIALES

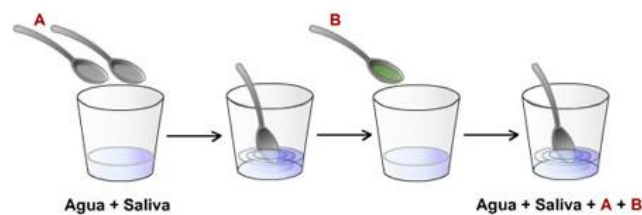
- Muestra de saliva
- 3 vasos de precipitado (o de plástico)
- Tubo de ensayo
- Alcohol de 96º
- Solución de detergente, lavavajillas
- Solución de NaCl (sal)
- Agua
- Varilla de vidrio
- Cuchara

METODOLOGÍA. PROCEDIMIENTO.

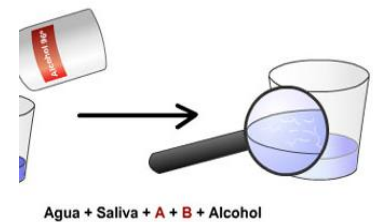
1. Rotula cada uno de los vasos de precipitado o de plástico con las letras A, B y C.
2. En el vaso A, realiza una disolución saturada de sal en agua. Añadimos sal mientras siga disolviéndose sin precipitar en el fondo del vaso.
3. En el vaso B mezclamos un 70% de agua y un 30% de detergente lavavajillas.
4. En el vaso C llenamos con agua un tercio del vaso



5. Colocamos en el tubo de ensayo alcohol de 96º (dos cucharadas)
6. Nos enjuagamos la boca enérgicamente durante al menos un minuto con el agua contenida en el vaso C para arrastrar el mayor número posible de células de descamación de la mucosa bucal (antes de hacerlo conviene haber tragado saliva para eliminar la acción de los enzimas contenidos en ella).
7. Tras el enjuague depositamos de nuevo el contenido en el vaso C
8. Añadimos dos cucharadas de la disolución del vaso A en el C y se agita
9. Se añade una cucharada de la disolución contenida en el vaso B (detergente) en el vaso C y se agita muy bien.
10. A partir de este momento no se puede mover el vaso



11. Se añade lentamente al vaso C el alcohol contenido en el tubo de ensayo, debe resbalar por las paredes del vaso.
12. Esperar unos minutos (de dos a tres) sin mover el vaso.
13. Se observa la aparición de dos fases en el vaso C. Una fase turbia en el fondo con la saliva y una fase transparente en la superficie con el alcohol, donde aparecen unos filamentos de color blanquecino ¡nuestro ADN!
14. Recogemos el ADN con ayuda de un palillo, varilla de vidrio. Para ello se introduce con cuidado la varilla en la interface y se gira con suavidad mientras se extrae lentamente.
15. Podemos conservar el ADN extraído en un tubo de ensayo o en un ζ con alcohol de 70⁰ o teñirlo con un colorante básico como azul de metileno.



RESULTADOS

- Realiza un dibujo explicativo del proceso.
- Explica los resultados

CONCLUSIONES

- ¿De dónde proviene el ADN aislado a partir de la saliva?
- ¿Obtenemos sólo ADN?
- ¿Por qué utilizamos NaCl y detergente para aislar el ADN? ¿Qué efecto tiene sobre las células?
- ¿Para qué sirve el alcohol?
- ¿Dónde se localiza la cromatina en la célula?



PRÁCTICAS DE LABORATORIO ANATOMÍA APLICADA.

RESULTADOS

La saliva arrastra las células del epitelio que recubre las paredes internas de la boca y que se están desprendiendo constantemente. Durante el enjuague el agua ha recogido las células que se desprenden de las encías, las paredes de la boca, la lengua, etc.

Para poder acceder al ADN primero tenemos que acceder al núcleo de la célula y para eso es necesario romper la membrana plasmática. Después debe romperse la membrana nuclear, para dejar libre el ADN. Por último debemos proteger el ADN de enzimas que puedan destruirlo y para aislarlo hay que hacer que se precipite en alcohol.

La sal común (NaCl), con esa concentración, es un medio hipertónico que provoca el estallido de las células y los núcleos, quedando libre las fibras de cromatina. El detergente cumple la misión de formar un complejo con las proteínas histonas y separarlas del ADN

El ADN es soluble en agua pero cuando se encuentra en alcohol se desenrolla y precipita en la interface alcohol – agua. El alcohol también separa el ADN de otros componentes celulares que son dejados en la solución acuosa.

En realidad el procedimiento descrito es para separar ácidos nucleicos, por lo que obtenemos una mezcla de ADN y ARN.