

mecánica, liberación de la macromolécula, y precipitación del ADN.

En este experimento, las paredes celulares del kiwi se rompen por la acción mecánica de aplastamiento del tejido y luego por medio del calentamiento; el detergente disuelve los lípidos presentes y la membrana del núcleo (de forma equivalente a como actúa con la grasa de los platos sucios). Al ya no estar confinado en el núcleo, el ADN cargado negativamente —y muy soluble en agua debido a los grupos fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) de cada nucleótido— pasa a la disolución. Sin embargo, los iones sodio cargados positivamente ( $\text{Na}^+$ ) que provienen del cloruro de sodio de la mezcla extractora se unen a las cargas negativas del ADN y lo neutralizan, formando la sal sódica. Esta neutralización de carga eléctrica permite que las moléculas de ADN se junten unas con otras, formando un agregado que, con la adición del alcohol frío, precipita en la interfase, ya que el ADN no es soluble en el alcohol.

Cada agregado macroscópico en el precipitado contiene millones de cadenas de ADN pegadas unas a otras, junto con parte de las proteínas asociadas al ADN dentro del núcleo. Es por eso que el ADN obtenido en este experimento se encuentra ligeramente contaminado. Resulta muy interesante y satisfactorio para los alumnos enviar la muestra a un laboratorio de análisis bioquímico para ratificar que lo que obtuvieron efectivamente es ADN. El análisis se hace por métodos espectrofotométricos, dado que el ADN, como toda molécula, contiene grupos funcionales que ofrecen patrones característicos de absorción de distintas fracciones del espectro electromagnético. Este patrón es interpretado por un instrumento llamado espectrofotómetro, que emite luz de determinada longitud de onda y la hace pasar por la sustancia que se quiere analizar determinando el grado de absorción para cada longitud de onda. El ADN exhibe una señal típica de máxima absorbancia a 260 nm, mientras que una proteína típica lo hace a aproximadamente 280 nm. Esta diferencia es la que sirve para distinguir los dos tipos de moléculas.

El ADN extraído del kiwi se filtró de la disolución, se disolvió en una disolución buffer y se sometió a un análisis espectrofotométrico para te-



ner idea de su grado de pureza. El análisis mostró un pico a 264 nm, poniendo en evidencia cierta contaminación por proteínas.

#### Preguntas para discusión con el grupo:

1. No es posible aislar y tocar la mayoría de las moléculas que conforman a los seres vivos de un modo tan sencillo como lo hicimos con el ADN. ¿Por qué crees que eso suceda?
2. ¿Cómo se relaciona el proyecto Genoma Humano con el experimento realizado? ¿Por qué es tan importante?
3. A algunas personas les preocupa que el ADN pueda ser alterado en los laboratorios y que los humanos cambiemos por algo que no éramos originalmente. ¿Puedes dar ejemplos de algunos tipos de genes humanos que pudieran alterarse artificialmente? ¿Crees que los científicos deberían proseguir con este tipo de investigaciones? ¿Por qué sí o por qué no?

#### IV. Bibliografía

[http://www.exploratorium.edu/ti/human\\_body/dna.html](http://www.exploratorium.edu/ti/human_body/dna.html)

Esperamos sus comentarios y sugerencias, que pueden hacer con atención a: Rosa María Catalá, al teléfono 56 22 72 97, fax 54 24 01 38, correo electrónico [comoves@universum.unam.mx](mailto:comoves@universum.unam.mx)

Los profesores pueden copiar esta guía para su uso en clase. Para cualquier otro uso es necesaria la autorización por escrito del editor de la revista.



# Extracción del ADN del Kiwi

Edición especial sobre las ciencias del genoma

(No. 37)

#### Maestros:

Esta guía se ha diseñado para que un artículo de cada número de *¿Cómo ves?* pueda trabajarse en clase con los alumnos, de modo que se adapte a los programas de ciencias naturales y a los objetivos generales de estas disciplinas a nivel bachillerato. Esperamos que la información y las actividades propuestas sean un atractivo punto de partida o un novedoso “broche de oro” para dar un ingrediente de motivación adicional a sus cursos.

#### I. Ubicación de la temática en los programas del bachillerato de la UNAM

##### Sistemas ENP y CCH

Los artículos y esta guía pueden abordarse en cursos medios y superiores de biología y anatomía, donde el tema del genoma resulta de gran actualidad y ofrece varias oportunidades de interesante discusión. En esta ocasión, y por tratarse de un tema reciente que se ha trabajado poco a nivel experimental a nivel bachillerato, se incluye una guía experimental.

#### II. Experimento

##### Extracción de ADN a partir de frutas

¿Piensas que tienes poco en común con una fruta de kiwi? Lo creas o no, el material genético del kiwi es muy similar al humano. Con esta experien-

cia podrás verlo, olerlo y entrar en contacto directo con verdaderas moléculas de la herencia.

Antes de empezar es importante que investigues un poco sobre el ADN (ácido desoxirribonucleico) y su función en los organismos vivos. ¿Te parecen a tus padres o familiares? ¿Por qué crees que es así?

##### Material:

- 1 vaso de precipitados de 500 mL o 1 Matraz Erlenmeyer de 150 mL
- 2 recipientes graduados de 200 mL
- 1 probeta de 100 mL
- Agitadores de vidrio o de plástico, delgados
- Cuchillo y tenedor para cortar y hacer puré
- Papel encerado o plato de cartón
- Termómetro de mercurio
- Balanza analítica (0.01-200g)
- Parrilla de calentamiento (opcional)
- Embudo de cola larga con estrías
- Papel filtro Whatman 1, que quede en el embudo
- Reloj o cronómetro
- 2 recipientes para baño maría
- 1 tubo de ensayo para cada miembro del grupo
- Gradilla para tubos de ensayo
- 1 gotero
- Gancho hecho de alambre de nicromel (opcional)
- Soporte Universal con anillo metálico

### Sustancias:

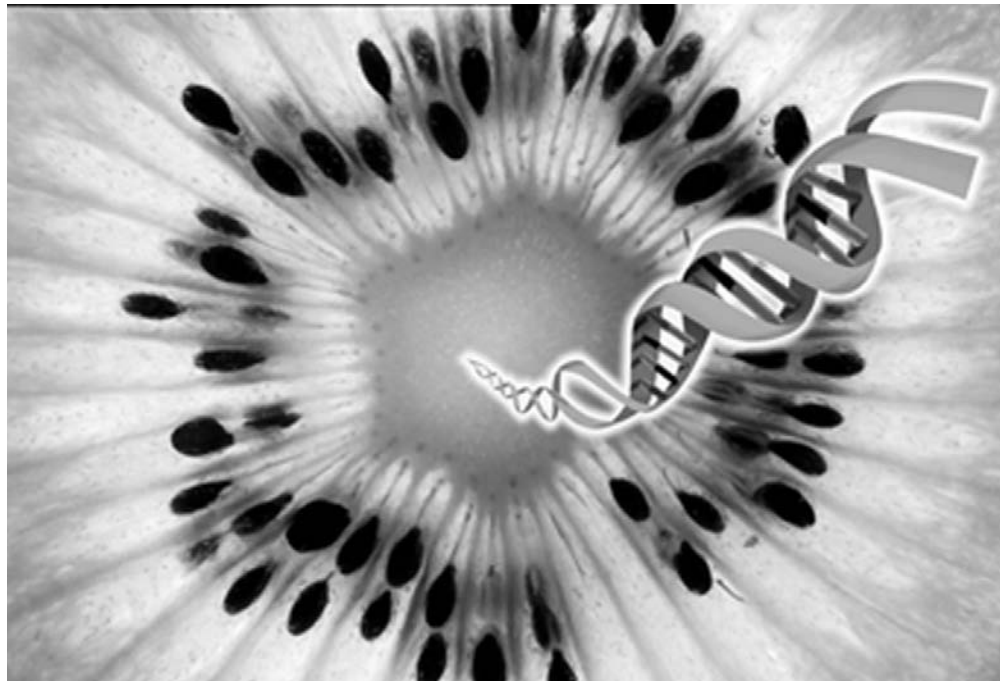
Agua caliente

- 50 mL de etanol frío
- 2 g de sal de mesa
- 10 mL de detergente líquido
- Un kiwi
- Hielo

### Procedimiento:

Extracción del ADN

1. Prepara un baño de agua y hielo, colocándolo en un recipiente a una profundidad de 5 a 8 cm. Pon los 50 mL del etanol frío en un vaso de precipitados de 100 mL y colócalos en el baño de hielo.
2. Prepara la disolución de extracción de ADN: disuelve 2 g de sal en 90 mL de agua en un vaso de precipitados de 200 mL. Luego agrega 10 mL del detergente líquido y agita (¡muy suavemente!) con el agitador.
3. Pela el kiwi sobre el papel encerado o sobre un plato de cartón y córtalo en pedazos regulares.
4. Usa la balanza para pesar 30 g de pedazos de kiwi, luego aplástalos con el tenedor hasta tener un puré fino.
5. Coloca el puré de kiwi en un vaso de precipitados de 20 mL.
6. Vierte la disolución de extracción de ADN (paso 2) sobre el puré de fruta, de forma que el volumen total de fruta y líquido sea aproximadamente el doble del de puré de fruta solo.
7. Prepara un baño de agua caliente, colocando agua (aprox. a 80°C) hasta una profundidad entre 5 y 8 cm. Revisa la temperatura con el termómetro y agrega agua fría hasta que obtengas una temperatura de 60°C. Si cuentas con una parrilla de calentamiento, coloca sobre ella el baño, de manera que puedas controlar una temperatura constante de 60°C. Si no cuentas con la parrilla tendrás que ajustar con agua caliente cada 5 minutos.
8. Coloca el vaso de precipitados con la fruta y la disolución de extracción en el baño de agua caliente. Anota la hora de inicio.
9. Deja que el contenido del vaso incube en el baño de agua caliente por 10 o 15 minutos. Agita la disolución ocasionalmente para dis-



tribuir el calor. La temperatura del baño no debe bajar de 50°C en ningún momento durante el periodo de incubación.

10. Después de los 10 a 15 minutos transcurridos, transfiere el vaso que contiene la fruta al baño de hielo. Permítele reposar allí por 5 minutos, agitando ocasionalmente a medida que se enfría.
11. Mientras se enfría la mezcla de extracción, monta el dispositivo de filtración. Este consiste del embudo que se coloca sobre un vaso de precipitados de 500 mL, con el papel filtro doblado y humedecido. Ayúdate de un soporte universal y de anillo metálico.
12. Coloca la mezcla de extracción enfriada en el embudo. Permite que el líquido se filtre por unos 5 minutos.
13. Agrega unos 5 mL del filtrado en un tubo de ensayo.

### Precipitación del ADN

1. Con mucho cuidado, deja escurrir por las paredes del tubo 10 mL de etanol frío (lo más frío que se pueda tener) sobre el filtrado. También

puede agregarse el alcohol por medio de un gotero, dejando resbalar las gotas con el gotero inclinado.

2. Coloca el tubo de ensayo en la gradilla. Observa lo que sucede en el tubo de ensayo en la interfase entre el alcohol y el filtrado. Anota tus observaciones.
3. Permite que la disolución repose por dos minutos, sin moverla. Se formará un precipitado blanco en la interfase con el alcohol. Éste es el ADN, y aparece como una sustancia resbalosa, como una especie de mucosa blanca.
4. Si lo deseas, puedes recoger el ADN, enrollándolo en el popote o agitador delgado a partir de la interfase con el alcohol. Interpreta tus observaciones.

### Preguntas:

¿Cuál será el propósito de cada paso en la extracción y precipitación del ADN? El ADN obtenido no se encuentra puro, ¿qué otras sustancias podrían haberse extraído mezcladas con el ácido desoxirribonucleico?

## III. Notas para el maestro

### a) Aspectos técnicos

- El etanol no debe tener una pureza menor al 96%, no usar el desnaturalizado de farmacia, ya que contiene acetona que afecta el resultado del experimento. Debe enfriarse en el congelador la noche antes del experimento.
- El detergente líquido no debe tener un color pronunciado.
- El tiempo de la actividad con el grupo es de aproximadamente 45 minutos.
- El tiempo de preparación es de 30 minutos.
- El número de integrantes por equipo es de tres a cinco alumnos.
- El tiempo de la actividad puede reducirse considerablemente si se tienen preparadas la disolución extractora y los baños de agua caliente y fría antes de que lleguen los alumnos al laboratorio.
- En caso de que no hubiera tiempo para terminar en una sola sesión, puede completarse en dos días, dejando el filtrado cubierto y guardado en un refrigerador (sólo por una noche).

### b) Conceptos

El ADN es el material genético de los organismos, su nombre completo es ácido desoxirribonucleico. Una subunidad de ADN se conoce como nucleótido, consiste de una base nitrogenada, un azúcar y un grupo fosfato. Cientos de miles de nucleótidos se unen dando lugar a una cadena polimérica, y dos cadenas de nucleótidos se entrelazan por enlaces débiles intermoleculares, de manera que forman una doble hélice para construir la molécula completa de ADN. Esta sustancia está contenida en los cromosomas presentes dentro del núcleo celular. La secuencia de las subunidades del ADN determina las características de cada organismo. Se puede extraer ADN con los tejidos de un organismo con un procedimiento muy simple y económico como el que se propone en este experimento.

### Comentarios sobre el experimento:

El procedimiento utilizado en esta actividad tiene los mismos principios básicos de métodos más complejos de extracción de ADN en laboratorios avanzados: la ruptura de células por acción térmica y