

EXTRACCIÓN DE ADN DE GUISANTES

Materiales y equipamiento necesarios por persona o grupo de trabajo

- Guisantes, unos 50 g (valen congelados, pero hay que descongelarlos previamente)
- Detergente líquido común, 10 ml (no usar detergente concentrado)
- Tableta de sal, 3 g
- Agua destilada, 90 ml
- Etanol muy frío, unos 10 ml, directamente sacado del congelador (Una alternativa al congelador es colocar durante varias horas en hielo la botella de etanol sellada antes de ir a usarlo.)
- Neutrasa (una proteasa) de Novozymes, 2-3 gotas. Puede usarse zumo de piña.
- Hielo en un recipiente con agua fría
- Filtros para café de papel (no usar papel de filtro de laboratorio, el líquido tarda mucho en atravesarlo)
- Jeringuilla de plástico de 1 ml (sin aguja)
- Embudo de plástico grande
- Dos vasos de precipitados de 250 ml
- Un tubo de ensayo de vidrio o un tubo graduado de plástico
- Una varilla de vidrio con el extremo plano o una cuchara para remover la mezcla
- Baño de incubación a 60°C

Procedimiento

1. Disolver la sal en los 90 ml de agua destilada. Añadir el detergente líquido y mezclar suavemente.
2. Aplastar los guisantes con la varilla de vidrio o con la cuchara. Añadir el puré de guisantes a un vaso de precipitados con la disolución salina de detergente.
3. Poner el vaso con la mezcla en el baño a 60°C durante **exactamente** 15 minutos. Este tratamiento hace que se rompan las membranas celulares de los guisantes. El detergente forma complejos con los fosfolípidos y las proteínas de la membrana haciendo que precipiten. Además, los iones sodio de la sal rodean los grupos fosfato con carga negativa de las moléculas de ADN y se produce su coalescencia. A 60°C, las DNAsas, enzimas que de otra manera podrían empezar a degradar el ADN, están parcialmente desnaturalizadas.
4. Enfriar la mezcla poniendo el vaso de precipitados en un baño de agua helada durante 5 minutos y removiendo con frecuencia. Esto reduce la rotura del ADN que se produciría si se mantuviera una alta temperatura.
5. Filtrar la mezcla sobre el segundo vaso de precipitados (nota del traductor: utilizar el embudo y el filtro de café para llevar a cabo la filtración). Asegurarse de que la espuma de la parte superior del líquido no contamina el filtrado. El filtrado contiene las proteínas solubles y el ADN.
6. Opcional: añadir 2-3 gotas de proteasa a unos 10 ml del extracto de guisantes y mezclar bien en el tubo de ensayo. (Nota del traductor: utilizar la jeringuilla para añadir la proteasa). La proteasa degradará proteínas de la preparación.
7. Verter muy cuidadosamente el etanol o el IDA helados por un lateral del tubo para que se forme una capa en la parte superior del extracto de guisantes.
8. Dejar reposar el tubo unos minutos. Los ácidos nucleicos (ADN y ARN) son insolubles en el etanol frío y precipitarán en la capa superior (etanólica).