

PRÁCTICA 2

EXTRACCIÓN DE DNA

Obxectivo da práctica: Recoñecer a estrutura fibrilar do DNA e aprender técnicas de extracción de sustancias a partir de tecidos. O método é caseiro.

Fundamento: A extracción do DNA basease na súa solubilidade en medio acuoso e a precipitación en contacto co alcohol.

Nun primeiro momento o a mostra sométese a disgregación mecánica que rompe as estruturas dos tecidos, e posteriormente un ataque químico, empregando deterxentes, para romper as membranas das células (naturaleza lipídica) e liberar o DNA do seu confinamento no núcleo. Filtrando a suspensión resultante reservamos a parte acuosa onde estarán os compoñentes celulares solubles, incluíndo o DNA asociado a proteínas. Podemos empregar algún tratamento para eliminar parcialmente estas proteínas como o tratamento con "líquido limpador de lentes de contacto" ou "abrandador de carne" (este produto non é moi común entre nos, pero en Latino-América emprégase con frecuencia). Despois procederemos a precipitar o DNA empregando etanol.

Material e métodos:

1. Fonte de DNA
2. Morteiro ou batidora
3. Material de vidro: vasos, tubos de ensaio, etc
4. Sal (NaCl)
5. Lavalouzas (Fairy, Mistol, Woolite ou similar)
6. Líquido limpador de lentes de contacto
7. Etanol 95% (v/v) (95°)

Protocolo:

1. Tómanse 5-10g de xermolo de trigo (como fonte de DNA) e mestúranse con 1g de NaCl e 100mL de auga destilada.
2. Bátese o conxunto ou tritúrase no morteiro.
3. Fíltrase o resultado e ao líquido resultante se lle engaden 20 mL de lavalouzas.
4. Mestúrase ben pero con coidado para que non se forme espuma e se deixa estar durante 15 min.
5. Despois dese tempo a mestura repártese en tubos de ensaio enchéndooos ata a terceira parte, se engade 0,5-1 mL de limpador de lentes de contacto e se deixa actuar 5 min.
6. Finalmente e moi suavemente ladease o tubo de ensaio e vaise engadindo etanol, pero moi amodiño para que se formen dúas fases de diferente densidade e se segue engadindo ata que as dúas fases teñan, aproximadamente, o mesmo volume.
7. Cun palillo ou algún obxecto que teña forma de gancho vaise arrastrando o DNA dende a fase acuosa á alcohólica e procurando que se peque ó gancho para poder extraelo e redisolvelo independente de impurezas.

