

ANÁLISIS MOLECULAR DE LAS CACTÁCEAS DE BOYACÁ “EXTRACCIÓN CASERA DE ADN” TALLER

ACTIVIDAD PARA EL FOMENTO DE LA CIENCIA EN COLEGIOS PÚBLICOS DE LA CIUDAD DE TUNJA

Laboratorio de Genética
Institución Educativa Libertador Simón Bolívar
GEBIMOL -UPTC 2020
Realizado por:
Iván F. Calixto-Botía, Ph.D.

INTRODUCCIÓN

El Grupo de Estudios en Biología Molecular -GEBIMOL- de la UPTC de Tunja realiza diferentes actividades de investigación en el campo de la Biología molecular y genética. Dentro de sus líneas está la caracterización genética vegetal para la prospección en el Departamento de Boyacá. En la actualidad este objetivo lo venimos desarrollando con el proyecto titulado “Identificación de las características biofísicoquímicas, moleculares y morfológicas de *Austrocylindropuntia subulata*, *Opuntia dillenii* y *O. ficus-indica* (Cactaceae), nativas de Boyacá para el desarrollo de alternativas de aprovechamiento tecnológico que aporten a la seguridad alimentaria del departamento”, el cual hace parte del programa COLOMBIA BIO CONVOCATORIA 794-2017, financiado por el convenio especial de cooperación 80740-272-2019 entre Minciencias, del Gobierno Nacional y la UPTC. Dentro de este proyecto realizamos una caracterización genética mediante marcadores moleculares a poblaciones de cactus del Departamento con el fin último de desarrollar un producto comestible a partir de este recurso: una barra alimenticia.

Para el grupo es de vital importancia la divulgación y promoción de las Ciencias, por tanto, dentro de este proyecto tenemos contemplado el desarrollo de un taller de acercamiento a la Biología molecular a estudiantes de décimo y once de instituciones educativas. Este taller, titulado “Extracción de ADN de plantas de cactus” ya ha sido dictado con excelentes resultados a estudiantes de bachillerato de Cucaita usando las instalaciones del laboratorio GEBIMOL en la Universidad, y ahora buscamos dictarlo a estudiantes de colegios en la ciudad de Tunja.

Dada la coyuntura de la pandemia de coronavirus, hemos modificado ligeramente la actividad para que los estudiantes pueden realizarla en sus casas. Gracias a este taller los estudiantes reforzarán sus

conocimientos teóricos en genética y tendrán un acercamiento a las actividades rutinarias de investigación en esta área de las ciencias dentro de un contexto familiar y asequible. A continuación, formulamos los aspectos clave de la actividad.

Título actividad: *Extracción casera de ADN.*

Dirigido a: estudiantes de grado 10 y 11 de la Institución Educativa Libertador Simón Bolívar, Barrio Bolívar, de la ciudad de Tunja.

Objetivo: fomentar la promoción de las Ciencias y la investigación en el área de la Biología en jóvenes estudiantes próximos a desarrollar una formación profesional. Con la actividad, los estudiantes reforzarán sus conocimientos teóricos en la estructura de la molécula del ADN y del área de la genética, algunos conceptos básicos en bioquímica y tendrán un acercamiento a las actividades rutinarias de un laboratorio de genética. Con el taller se espera despertar en ellos la curiosidad y pasión por la ciencia de la genética y mostrarles las posibilidades de desarrollar sus potencialidades intelectuales dentro de las ciencias en general.

Metodología: debido a la carentena por cuenta de la pandemia de coronavirus, el taller se desarrollará en cada una de las casas de los estudiantes con implementos básicos que se pueden encontrar en una cocina. Así, usando elementos como sal, banano y una licuadora, los estudiantes podrán obtener y visualizar en menos de media hora el ADN. Con el acompañamiento y apoyo de los docentes de sus cursos de Biología, a los estudiantes se les enviará un documento con las instrucciones y una serie de preguntas antes de iniciar el procedimiento con el fin de darles una introducción, establecer el alcance de la actividad e inculcar en ellos el método científico. Igualmente desarrollarán una serie de preguntas al finalizar la actividad con el fin de reforzar lo aprendido, profundizar en los conceptos, generar nuevas preguntas y, claramente, obtener verificables para los docentes. Como material de apoyo, junto con el documento se les enviará un video en el cuál de manera didáctica se realizará el procedimiento.

A continuación, el desarrollo del taller:

EXTRACCIÓN CASERA DE ADN

1. OBJETIVOS

- Identificar los pasos básicos en el procedimiento de extracción de ADN
- Entender los fundamentos bioquímicos implicados en el aislamiento y limpieza del ADN

2. INTRODUCCION

El aislamiento del material genético es un proceso fundamental en el laboratorio de Biología Molecular. La calidad y cantidad de material extraído, ya sea en forma de ADN o ARN, permitirá el éxito de su posterior lectura, análisis y manipulación en técnicas como amplificación por PCR, muy mencionada en estos días ya que es la técnica más precisa que permite el diagnóstico del coronavirus llamado SARS-CoV-2 mediante la detección de su material genético en la muestra del paciente. En el proceso de extracción es necesario separar el ADN de otras moléculas y partículas celulares para tenerlo de la manera más pura posible. Existen muchos métodos para extraer el ADN, para elegir el que mejor se adapte a nuestras necesidades se debe tener en cuenta diferentes aspectos como el tipo de muestras del cual se va a obtener, su integridad (nivel de fragmentación) y la cantidad disponible para hacerlo, la presencia de organismos no deseados en la muestra (e.g. simbiosis), entre muchos otros.

Las técnicas clásicas de extracción de ácidos nucleicos implican una serie de pasos en laboratorio para la lisis de agua (en análisis metagenómicos), de estiércol, etc. Técnicas más modernas para la extracción de ácidos nucleicos hacen uso de la carga negativa del ADN para separarlo mediante perlas magnéticas de carga positiva [1]. Estos procesos suelen estar acoplados a equipos robotizados en tareas que implican procesamientos masivos (como el diagnóstico de enfermedades o pruebas de paternidad).

En la actualidad se dispone de un sinnúmero de kits de extracción ofrecidos por empresas en biotecnología que simplifican la tarea y usualmente dan resultados más homogéneos (en términos de calidad y cantidad de ácido nucleico extraído). En estos kits los solventes orgánicos son sustituidos por filtros que retienen el ADN o ARN. Así, por ejemplo, encontramos kits para extracción de ARN viral, de ADN vegetal, animal, a partir de muestras de suelo, de muestras de agua (en análisis metagenómicos), de estiércol, etc. Técnicas más modernas para la extracción de ácidos nucleicos hacen uso de la carga negativa del ADN para separarlo mediante perlas magnéticas de carga positiva [1]. Estos procesos suelen estar acoplados a equipos robotizados en tareas que implican procesamiento masivos (como el diagnóstico de enfermedades o pruebas de paternidad).

3. PROCEDIMIENTO

3.1 PARTE 1

Durante esta parte de la sesión se presentarán videos ilustrativos y se realizara una charla indicando los pasos principales de la extracción de DNA:

Video 1: generalidades: <https://www.youtube.com/watch?v=a8d8ZNSX880>

Video 2: proceso automatizado: <https://www.youtube.com/watch?v=7QQOivJgHkM>

3.2 PARTE 2

A continuación, encontrará tres metodologías para el aislamiento del ADN de forma casera. Dentro de cada grupo de laboratorio, cada estudiante escogerá alguno de estos métodos para realizarlo en su casa. Los ingredientes y materiales son comunes en una cocina o se consiguen fácilmente en una farmacia o mercado. Una vez realizado el procedimiento, los estudiantes de cada grupo se reunirán para compartir sus experiencias.

En el informe a presentar se incluirán las gráficas de los flujos de trabajo en la parte metodológica. Las preguntas se incluirán dentro de la discusión. Además, con el fin de constatar que cada estudiante realizó el procedimiento en su casa, se incluirá un apartado de anexos donde se adjuntarán las fotos de cada uno de los estudiantes durante la realización del proceso y “posando” con su respectivo ADN extraído. Si lo prefieren, pueden adjuntarse videos como anexos dentro de una carpeta unida al informe.

EXTRACCIÓN A PARTIR DE BANANO (Método 1):

Materiales:

Trozos de Banano

* Detergente líquido.

* Sal.

* Papel toalla o filtros para cafetera.

* Ablandador de carnes.

* Alcohol etílico.

* Agitador (cuchara, tenedor, varilla de cristal...).

* Vaso de cristal o plástico transparente.

* Bolsa de plástico.

Se deberá colocar la fruta en una bolsa de plástico y cerrarla. Triturar la fruta con las manos. Es importante que el tejido carnoso de la fruta quede completamente disgregado. Este paso se conoce como homogenización de tejidos y en los laboratorios usualmente se realiza con nitrógeno líquido y en un mortero de porcelana. Abrir la bolsa y agregar un par de gotas de lavatrastes líquido a la fruta triturada. Cerrar la bolsa y homogenizar otra vez durante un par de minutos. Este paso nos permite lisar a las células, es decir, romperlas para liberar su contenido: proteínas, ácidos nucleicos y diferentes metabolitos. Filtrar sobre el vaso de cristal el extracto de frutas con ayuda de un filtro para cafetera o papel toalla. También se puede utilizar un colador o escurridor de verduras. Procurar que el tamaño de los agujeritos del colador o el escurridor sean lo suficientemente pequeños para que sólo obtengamos el jugo de la fruta. Agregar una pizca de ablandador de carnes. Agregar al jugo una pizca de sal.

Inclinar el vaso de cristal y agregar muy lentamente el alcohol al jugo de frutas. Habrá que hacerlo muy cuidadosamente y procurando que el alcohol resbale por la pared del vaso. El objetivo aquí es crear dos fases: en la parte inferior tendremos una fase del color de nuestra fruta, y en la parte superior una fase transparente (alcohol). Es importante no mezclar las fases. Observa con detenimiento qué sucede en la frontera entre las dos

fases, es decir, en la interfase. Si nuestra homogenización de tejidos y el lisado de las células fueron eficientes, observaremos unos hilillos blancos en la fase transparente. Después de unos minutos se podrá observar que los hilillos se convierten en aglomerados blancos de consistencia viscosa. Esa sustancia está compuesta por los ácidos nucleicos que estaban contenidos en el interior de las células de la fruta. Utilizar un agitador, palito de madera, varilla de cristal o cuchara para agitar suavemente y en círculos al alcohol, procura no mezclar las fases. La agitación circular nos permitirá concentrar a nuestra sustancia de ADN en el centro del vaso. Una vez que esté en el centro, intenta sacarlo del alcohol. Ya tenemos nuestro ADN listo para trabajar con él.

EXTRACCIÓN A PARTIR DE FRESA (Método 2):

Seguir las instrucciones del video: <https://www.youtube.com/watch?v=9LiRDPUYhe8>

EXTRACCIÓN A PARTIR DE SALIVA (Método 3):

Seguir las instrucciones del video:

(si no tienes probeta se recursivo): <https://www.youtube.com/watch?v=17HdF6LwCSI>

4. PREGUNTAS

1. Grafique el flujo de trabajo para cada uno de los métodos (inclúyalos como gráficas dentro del apartado de metodología de su informe)
2. Explique la función de cada uno de los ingredientes, materiales y secuencia de pasos en el proceso de extracción de ADN de cada una de las metodologías. Acá existe una razón de ser bioquímica frente a la naturaleza de los componentes celulares.
3. Compare y discuta las similitudes y diferencias de cada uno de los métodos usados.

5. REFERENCIAS

1. Caldarelli-Stefano, R., Vago, L., Bonetto, S., Nebuloni, M., & Costanzi, G. (1999). Use of magnetic beads for tissue DNA extraction and IS6110 Mycobacterium tuberculosis PCR. *Molecular Pathology*, 52(3), 158.
2. <http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/acym/>
3. <https://www.youtube.com/watch?v=9LiRDPUYhe8>
4. <https://www.youtube.com/watch?v=17HdF6LwCSI>
5. <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/A42352#/A42352>
6. <https://www.youtube.com/watch?v=7QQOivJgHkM>