

3.1 ¡¡Podemos ver el ADN!!

Hola de nuevo. Hoy vamos a extraer ADN y lo vamos a poder ver. ¿Te lo puedes creer? ¡Visualizar el ADN!

El ADN está en el interior de las células, bien protegido por la membrana nuclear, por el citoplasma y por la membrana plasmática. Así que lo que tenemos que hacer es ir eliminando poco a poco todos estos componentes y quedarnos únicamente con el ADN. Te contaremos cómo se hace en el laboratorio de virología, pero en la información adicional verás que puedes extraer ADN, por ejemplo, de una planta o de cualquier otra célula.

En algunas muestras necesitaremos aislar primero las células que nos interesan. Por ejemplo, con una muestra de sangre, precisaremos eliminar los glóbulos rojos (o eritrocitos), que como sabes, no tienen núcleo y, por tanto, carecen de ADN. Para ello, bastaría con diluir la sangre en agua destilada para que los glóbulos rojos estallen al llenarse de agua. Tras centrifugar, nos quedará un sedimento de células nucleadas.

El siguiente paso es romper las membranas celulares y disgregar los componentes. Como las membranas son lipídicas, lo mejor es emplear un detergente o surfactante. Las proteínas, los lípidos y el ARN se agregan mediante una solución hipersalina, o proteasas y ARNasas que las destruyen. Con cualquiera de estas opciones, al centrifugar quedan en el fondo los restos celulares y en el sobrenadante el ADN.

Así que ya tenemos el ADN aislado del resto de componentes celulares, pero está acompañado de cantidades residuales de lípidos, proteínas, y sales, detergentes, y otros reactivos empleados. Para eliminarlos se suele añadir una mezcla de fenol con cloroformo y alcohol isoamílico. Tras centrifugar, se puede observar una fase orgánica inferior, que contiene las proteínas degradadas por el fenol, y una fase acuosa superior con el ADN retenido por el cloroformo más el alcohol isoamílico, y los lípidos en la interfase. Retiramos con cuidado la fase acuosa superior, que contiene el ADN.

El último problema con el que nos encontramos es cómo concentrar el ADN que está en el cloroformo. Pues bien, el ADN precipita con isopropanol frío, por lo que al añadir este reactivo e invertir el tubo unas pocas veces, podremos empezar a ver una especie de algodoncito, que es precisamente el ADN. Al centrifugar, se retendrá en el sedimento que lavaremos con etanol para eliminar todos los restos de isopropanol y de los reactivos previos. Tras dejar secar ya tendremos nuestra muestra de ADN lista para trabajar con ella. ¡Bravoooo!

Este procedimiento resulta útil cuando se manejan pocas muestras, pero cuando el volumen de muestras a manejar es alto, o se dispone de poca cantidad de células en el material de partida (y por tanto, poco ADN), es más práctico utilizar minicolumnas comerciales que aíslan y purifican el ADN con alto rendimiento. También existen columnas para aislar y purificar ARN.

Cuando ya tenemos el ácido nucleico purificado, se suele disolver en un tampón adecuado o en agua bidestilada. Podemos estimar su concentración en un espectrofotómetro, viendo la relación entre el valor de absorbancia a 260 nm y 280 nm. El ADN puro tendrá una absorbancia $\geq 1,8$, mientras que si sigue habiendo proteínas, el valor será inferior.

Ya tenemos nuestro ADN, ahora ¡a trabajar con él! Reúnete conmigo en el siguiente video. Gracias por tu atención.