



Extracción de ADN mediante kits comerciales y técnicas D.I.Y. de bajo coste. Estudio comparativo

Jorge Rocamora Pérez
IES Juan Carlos I

Tutores: José María Espinosa y Ana Alicia Sánchez

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

El objetivo de este proyecto es la demostración de la existencia de un método para realizar extracciones de ADN que también resultan eficaces y más económicas, comparado con otro método más convencional que utiliza un kit comercial. Para demostrarlo, hemos realizado cuatro extracciones, utilizando dos muestras distintas en los ensayos y llevando a cabo dos extracciones para cada tipo de muestra. Estas muestras diferentes serán: una de plantas y otra de células animales. De la planta obtendremos y trabajaremos con células vegetales, y de la otra muestra obtenida con saliva humana, ADN de células animal. Para cada muestra se ha utilizado un kit distinto: el empleado en células vegetales es el PureLink™ Genomic Plant DNA Purification Kit, y el empleado en células animales el Thermo Scientific GeneJet Genomic DNA Purification Kit

MATERIALES Y REACTIVOS

MATERIALES	REACTIVOS
-Microtubos. -Micropipetas de 100 µL y de 10 µL. -Puntas de micropipeta de varios volúmenes. -Micropistilos -Centrífuga. -Bloque termostático. -Agitador o vortex -PCR -Equipo de electroforesis -Transiluminador	-Disolución de lisis de Guanidina 6 M. -Tampón de lavado. -Suspensión de sílice. -Tampón T.E. -Agarosa -Red safe -Tampón de carga 6X -Proteinasa K -Oligos PCR

MUESTRAS UTILIZADAS

ADN de célula vegetal	ADN de célula animal
En la célula vegetal, además de tener que romper la membrana plasmática (hecha de fosfolípidos), la membrana nuclear, y las membranas del cloroplasto y la mitocondria, también se tendrá que romper la pared vegetal primero.	La célula animal no tiene esta pared celular ni tampoco tendrá que romper las membranas de los cloroplastos puesto que no los poseen, ya que estos están implicados en la fotosíntesis y en la pigmentación verde de las plantas.

MÉTODOS

MÉTODO CONVENCIONAL	MÉTODO DIYBio
El método convencional que vamos a usar será la extracción de ADN por medio de columnas de sílice. Este método se basa en utilizar unos microtubos que almacenan dentro de ellos una columna de sílice a la cual el ADN se quedaría pegado. El ADN saldría de la columna con el tampón de elución.	En el experimento que hemos llevado a cabo la sílice no se encontraba en columnas, sino en una suspensión, conseguida a partir de un reactivo comercial que es mucho más barato, reduciendo así los costes de la extracción. Se realiza primero un proceso de unión, de lavado y por último de elución.

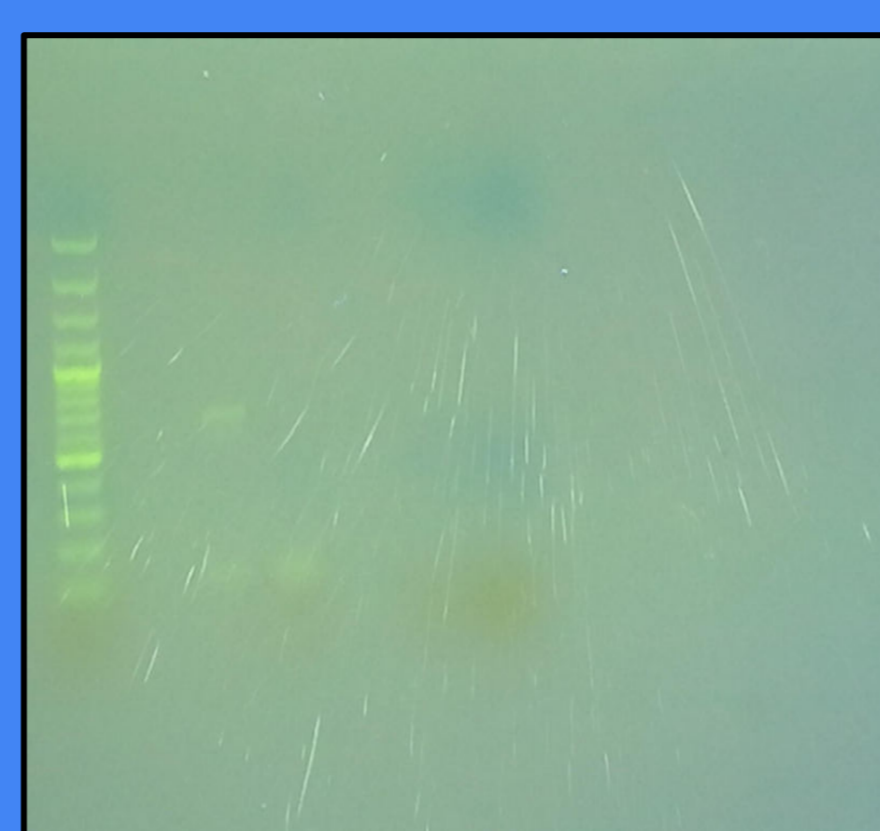
PROCEDIMIENTOS

Después de la extracción de ADN se realizarán dos procesos:

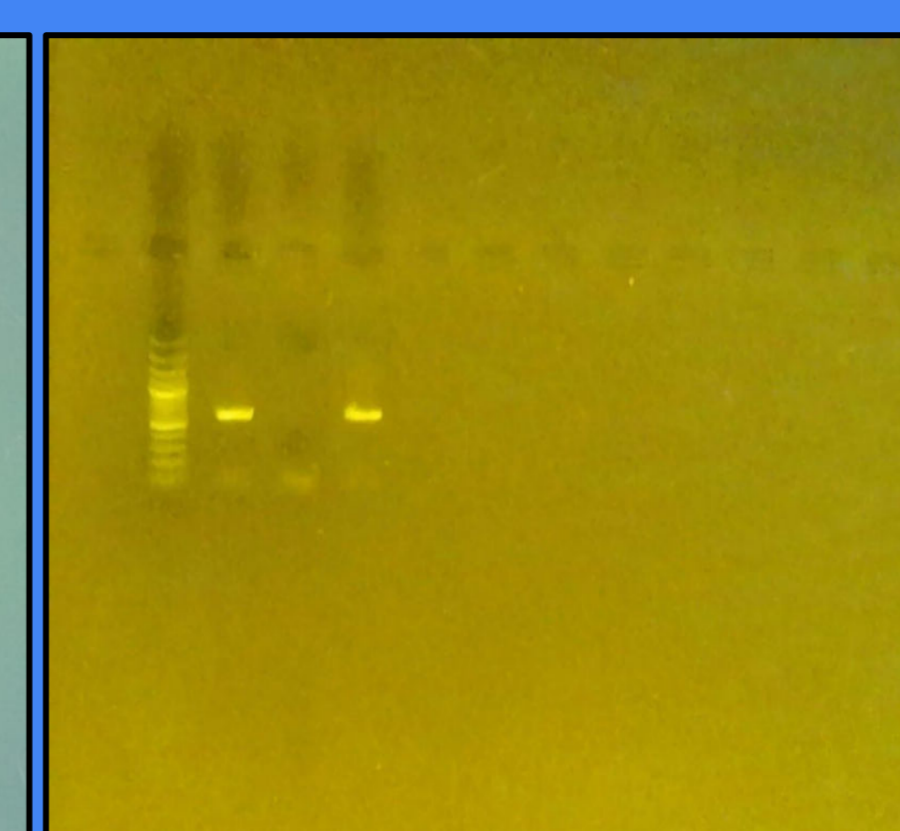
- **PCR:** También conocida como la reacción en cadena de la polimerasa es una técnica que se basa en utilizar de forma cíclica y repetida, la replicación natural del ADN mediante la enzima ADN polimerasa
- **Electroforesis:** Se basa en el movimiento que realizan las macromoléculas disueltas en un determinado medio, que será el tampón de electroforesis, a través de un soporte reticulado y como resultado de la acción de un campo eléctrico. La acción del campo eléctrico hará que posteriormente se puedan ver los fragmentos de ADN en los resultados.

RESULTADOS

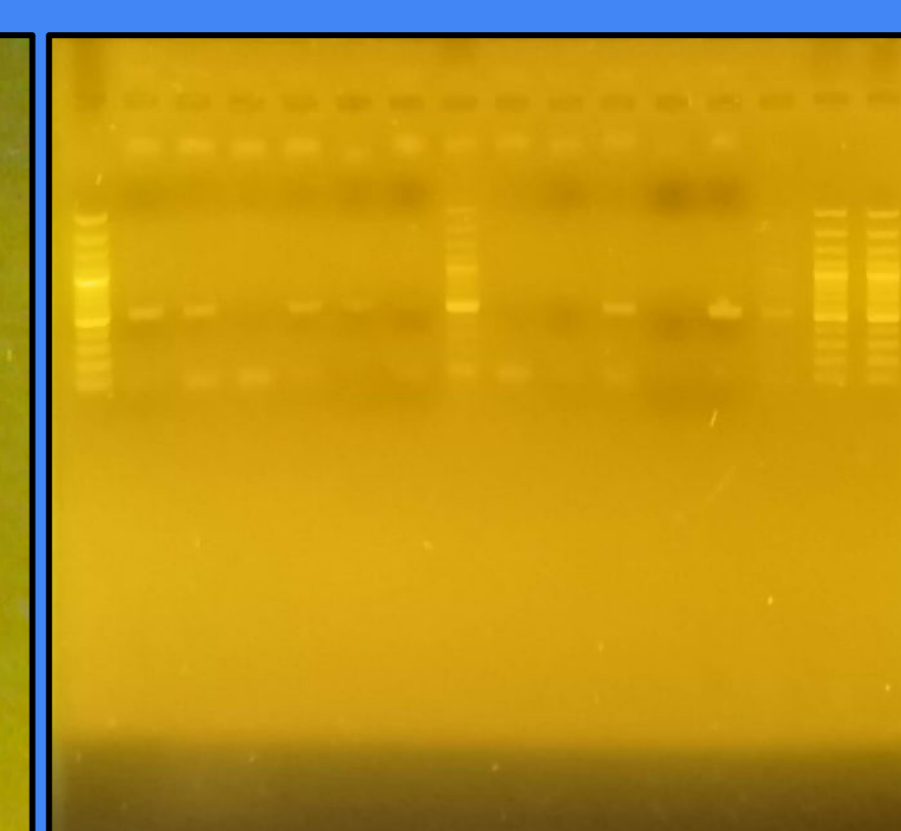
ADN de plantas con DIYBio



ADN de plantas con columna de sílice



ADNmt con DIYBio y columna de sílice



CONCLUSIONES

Tras haber realizado los anteriores procedimientos para ambas muestras y comparando los resultados obtenidos, podemos llegar a la conclusión que, el método que usa una suspensión de sílice para la extracción de ADN, puede obtener resultados igual de eficaces que el método convencional que usa columnas de sílice, y además resulta ser una técnica más económica.