

AISLAMIENTO Y DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS

Gabriel Castro, Juan Barbosa [†]

Departamento de Química. [†] Departamento de Física. Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

ABSTRACT:

■ INTRODUCCIÓN

■ SECCIÓN EXPERIMENTAL

■ RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.1 Aislamiento del ARN de levadura

Al disolver la levadura comercial en agua a una temperatura de 37 °C se busca activar el metabolismo del hongo, para que esto pueda suceda es necesario que el organismo produzca ARN con el fin de iniciar la producción de proteínas. En este sentido el control de la temperatura debe ser estricto, dado que cambios aumentos abruptos en esta, pueden llevar a que el organismo muera y cese su producción del ARN que posteriormente será cuantificado.

La adición de fenol permite extraer los ácidos nucleicos de la levadura dada la polaridad del mismo. Los ácidos nucleicos debido a sus grupos fosfatos, constituyen moléculas polares, las cuales se disuelven mejor en agua que en fenol. El proceso contrario sucede con las proteínas, las cuales tenderán a estar en la fase orgánica. La centrifugación de esta mezcla permite realizar la separación de fases, en donde en la fase acuosa se obtienen mayormente ácidos nucleicos y proteínas desnaturadas. La siguiente centrifugación permite aislar los ácidos nucleicos de las proteínas desnaturadas.

Finalmente, y con el objetivo de precipitar los ácidos nucleicos se adiciona acetato de potasio y etanol, los cuales promueven la formación de enlaces entre los aniones de los grupos fosfatos de los ácidos nucleicos, y el ion potasio, con lo cual se neutraliza la molécula, ocasionando su precipitación.

2.2 Aislamiento del ADN de fresa

2.3 Cuantificación de ácidos nucleicos

Se debe tener en cuenta que en el caso del ARN de la *S. cerevisiae* un contaminante común que puede aumentar las lecturas de absorbancia en 280 nm es el fenol, el cual absorbe en cerca de 270 nm y pudo haber permanecido en la muestra luego del proceso de extracción [1].

[2]

Tabla 1. Absorbancias a 230, 260 y 280 nm (u.a.), junto con la relación 260/280.

Muestra	A ₂₃₀	A ₂₆₀	A ₂₈₀	A ₂₆₀ /A ₂₈₀
<i>F. ananassa</i>	2.97	1.91	1.79	1.06
<i>E. coli</i>	4.85	1.79	1.47	1.22
<i>S. aureus</i>	3.50	2.35	1.79	1.31
<i>S.cerevisiae</i>	1.22	1.83	0.81	2.27

■ REFERENCIAS

- [1] Lee S Toni, Anastacia M Garcia, Danielle A Jeffrey, Xuan Jiang, Brian L Stauffer, Shelley D Miyamoto, and Carmen C Sucharov. Optimization of phenol-chloroform rna extraction. *MethodsX*, 5:599–608, 2018.
- [2] Joseph Sambrook, David W Russell, and David W Russell. *Molecular cloning: a laboratory manual (3-volume set)*, volume 999. Cold spring harbor laboratory press New York, 2001.

■ CONCLUSIONES

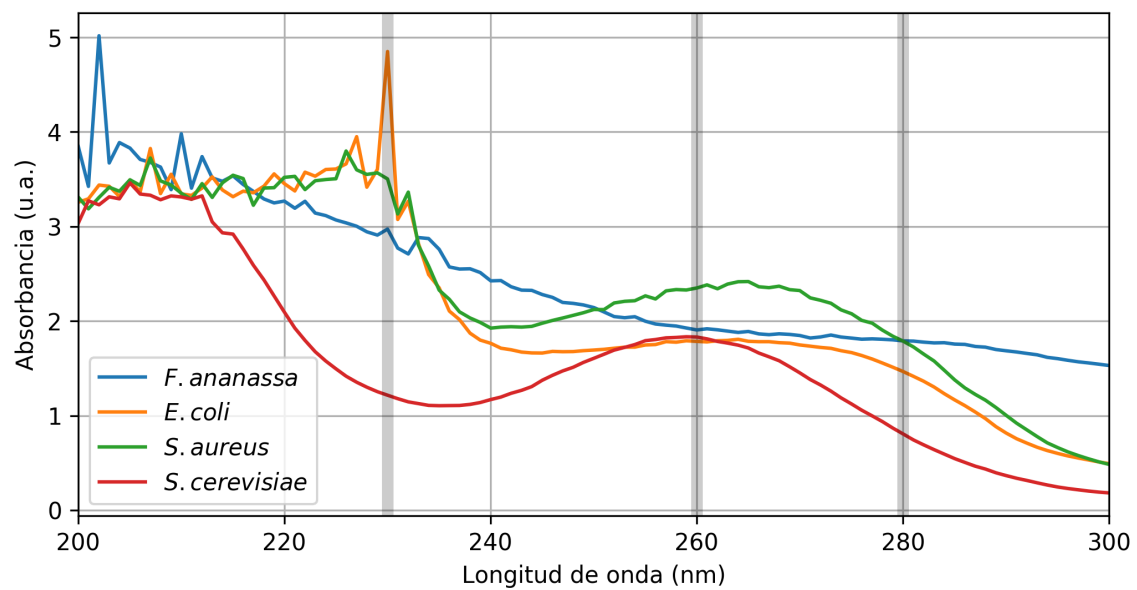


Figura 1. Absorbancias obtenidas para las distintas muestras en función de la longitud de onda.