



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 19 – JUNIO DE 2009

“OBSERVANDO MI PROPIO ADN”

AUTORÍA BELÉN FERNÁNDEZ MAROTO
TEMÁTICA BIOLOGÍA
ETAPA ESO

Resumen

Lo que pretendo con esta publicación es que conozcamos en mayor profundidad el interior de las células, más concretamente el ADN (ácido desoxirribonucleico), presente en el núcleo de cada una de nuestras células.

Palabras clave

ADN (ácido desoxirribonucleico)

Bases nitrogenadas

Nucleótido

Cromatina

Cromosomas

Genoma

Diploide

1. INTRODUCCIÓN

Es mucha la importancia que tiene el ADN en nuestro cuerpo ya que es la “máquina” que nos permite ser quien somos, ser como somos y simplemente ser.

Por ello hablaré de sus descubridores, de su estructura, de su organización y de sus funciones.

También explicaré una pequeña práctica, muy sencilla, gracias a la cual podemos observar el ADN de las células de nuestra mucosa bucal.

Finalizaré comentando la importancia del Genoma Humano.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 19 – JUNIO DE 2009

2. ¿QUÉ ES EL ADN?

El ácido desoxirribonucleico, frecuentemente abreviado como ADN (y también DNA, del inglés DeoxyriboNucleic Acid), es un tipo de ácido nucléico, que forma parte de todas las células y contiene la información genética usada en el desarrollo y el funcionamiento de los seres vivos.

Desde el punto de vista químico, el ADN es un polinucleótido formado por nucleótidos unidos entre sí. A su vez cada nucleótido está formado por un azúcar (la desoxirribosa), una base nitrogenada (que puede ser adenina (A), timina (T), citosina (C) o guanina(G) y un grupo fosfato . La disposición secuencial de estas cuatro bases a lo largo de la cadena es la que codifica la información genética.

En los organismos vivos, y por lo tanto en el ser humano, el ADN se presenta como una doble cadena de nucleótidos, en la que las dos hebras están unidas entre sí por unas conexiones denominadas puentes de hidrógeno.

3. ESTRUCTURA DEL ADN

El ADN posee varias estructuras:

Estructura primaria: es la secuencia de nucleótidos.

Estructura secundaria: es la disposición en el espacio de la estructura primaria.

Es el modelo postulado por Watson y Crick (doble hélice), del que hablaré posteriormente.

Estructura terciaria: el ADN se une a proteínas histónicas y no histónicas dando lugar a la aparición de los cromosomas.

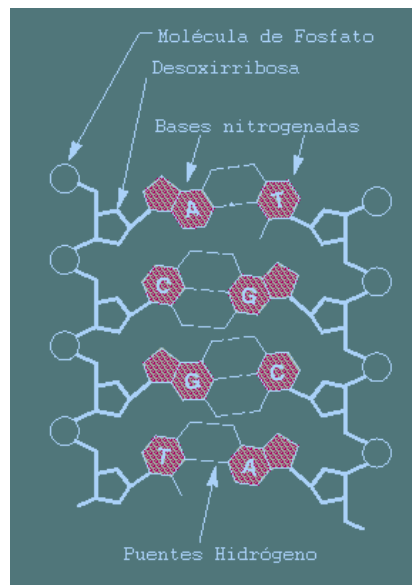
4. WATSON Y CRICK. ESTRUCTURA SECUNDARIA

James Watson y Francis Crick, gracias a la colaboración de Maurice Wilkins y Rosalind Franklin quienes les proporcionaron fotografías de ADN cristalizado capturadas mediante rayos X, descubrieron (28 de febrero de 1953) que los componentes del ADN se agrupaban siempre de la misma manera dando lugar a la estructura secundaria en la que las bases nitrogenadas se agrupaban en parejas (Adenina-Timina y Guanina-Citosina), unidas por moléculas de azúcar (desoxirribosa) y grupos de fosfato, estabilizándose esta estructura gracias a puentes de hidrógeno. Gracias a esto llegaron a las siguientes conclusiones:

INNOVACIÓN
Y
EXPERIENCIAS
EDUCATIVAS

ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 19 – JUNIO DE 2009

- El ADN es una doble hélice, de 2nm de diámetro, formada por dos cadenas de polinucleótidos enrolladas alrededor de un eje imaginario en el que las bases nitrogenadas se encuentran en el interior unidas entre sí mediante puentes de hidrógeno (la adenina se empareja siempre con la timina mediante dos puentes de hidrógeno, mientras que la citosina se empareja siempre con la guanina por medio de 3 puentes de hidrógeno). La estructura recuerda a una escalera de caracol en la que los peldaños son las bases nitrogenadas y los pasamanos las cadenas formadas por el azúcar y el ácido fosfórico.
- El enrollamiento de la cadena es dextrógiro, es decir, gira hacia la derecha.
- Cada pareja de nucleótidos está separada de la siguiente 0,34nm y cada vuelta de la doble hélice está formada por 10 pares de nucleótidos.
- Las dos cadenas de polinucleótidos son antiparalelas, es decir, están orientadas en sentidos opuestos y además son complementarias, o lo que es lo mismo, existe una correspondencia entre las bases nitrogenadas.



Watson y Crick ganaron el Premio Nobel de Medicina y Fisiología en 1962, por sus descubrimientos acerca de la estructura molecular de los ácidos nucleicos y su importancia para la transferencia de la información en la materia viva, cuando tenían 23 y 36 años respectivamente

5. ORGANIZACIÓN DEL ADN

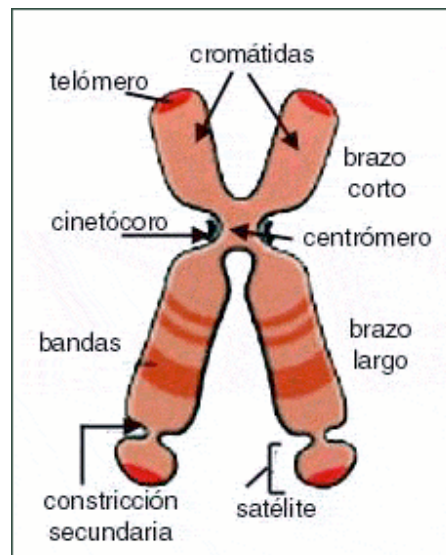
El ADN se asocia a proteínas (histonas y no histonas) formando la cromatina cuyo máximo grado de compactación forma los cromosomas.

El cromosoma más estudiado es el metafásico (la metafase es una de las fases de la mitosis o división celular) y es del que mejor se conoce su estructura. Consta de dos cromátidas paralelas entre sí unidas mediante una estructura llamada centrómero.

El centrómero divide al cromosoma en dos brazos que pueden ser del mismo o de diferente tamaño. A ambos lados del centrómero y encima de cada cromátida se localiza una estructura protéica llamada cinetócoro que interviene en la separación de los cromosomas durante la mitosis y meiosis.

En cada uno de los extremos del cada cromosoma existen unas estructuras llamadas telómeros que evitan que se pierda información genética durante la replicación (duplicación del ADN).

En algunos casos a uno de los extremos del cromosoma se une una estructura de ADN redondeada llamada satélite.



El número de cromosomas es constante para todas las células del organismo, excepto para las células sexuales. En el ser humano todas las células (excepto las células sexuales que son haploides) son



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N° 19 – JUNIO DE 2009

diploides, es decir, tienen dos parejas de cromosomas, uno heredado del padre y el otro de la madre y cuentan con un total de 46 cromosomas. Los cromosomas forman parejas de cromosomas homólogos (23 pares de cromosomas homólogos) conteniendo información genética para los mismos caracteres (color de piel, de ojos...)

Estos cromosomas constituyen lo que recibe el nombre de genoma, es decir, todo el material genético contenido tanto en el núcleo como en las mitocondrias.

6. FUNCIONES DEL ADN

Las funciones biológicas del ADN son:

- Almacenamiento de información genética.
- Codificación de proteínas gracias a la transcripción y traducción.

La secuencia de nucleótidos a lo largo de una hebra de ADN se transcribe a un ARN mensajero (ARNm) y esta secuencia a su vez se traduce a una proteína que un organismo es capaz de sintetizar o "expresar" en uno o varios momentos de su vida, usando la información de dicha secuencia.

- Autoduplicación o replicación del ADN.

Mediante este proceso se obtienen réplicas o copias idénticas de una molécula de ADN, para asegurar la transmisión de la información a las células hijas durante la división celular.

7. PROYECTO GENOMA HUMANO Y SU IMPORTANCIA PARA EL SER HUMANO

El genoma humano es el material genético contenido en las células del hombre, es la secuencia de ADN contenida en 23 pares de cromosomas presentes en el núcleo de cada célula humana diploide

Cada persona tiene su propio genoma, el cual guarda una gran similitud (99,8%) con todos los de su propia especie y tan solo se diferencia de la del chimpancé en algo más del 1%. Esa información, que se encuentra almacenada en todas y cada una de sus células y que le define e identifica como ser único e independiente, es lo que conocemos como su patrimonio genético o genoma.

El genoma humano, ese gran libro de la vida que contiene las instrucciones que determinan las características físicas y en parte psicológicas e intelectuales del individuo, ha sido recientemente descifrado en más del 99% de su totalidad, gracias al esfuerzo de un consorcio público internacional (Proyecto Genoma Humano) y una empresa privada (Celera). Pero, habrá que esperar algunos años más, hasta disponer de la información completa del genoma.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 19 – JUNIO DE 2009

Con este proyecto se pretende conseguir interpretar y comprender la información, saber la localización y relevancia de cada uno de los genes así como sus implicaciones en el diagnóstico de las enfermedades y en la terapéutica personalizada de cada individuo. En este sentido, la secuenciación del genoma abre una nueva avenida en el conocimiento y fundadas expectativas de interés en el área socio-sanitaria. Pero quedan todavía importantes cuestiones por resolver antes de que estas expectativas sean una realidad.

Los conocimientos requeridos para el avance del conocimiento sobre el genoma humano requieren al menos tres etapas consecutivas:

1. Completar la secuenciación de bases del ADN para obtener la información genética común a partir de un número suficiente de personas.
2. Conocer qué genes o grupos de genes participan en cada tipo celular y en qué enfermedades podrían estar implicados.
3. Adquirir datos referentes a todas las proteínas que se producen en la célula, a su presencia relativa en los distintos tipos celulares y en las distintas enfermedades.

El genoma es el soporte de un potencial desarrollo físico del individuo y su manifestación definitiva viene también definida por los factores ambientales que modulan la expresión del genoma de cada persona.

En la actualidad los expertos están de acuerdo en que más de 6.000 enfermedades tiene un origen claramente hereditario y de ellas, tan solo en un 3% de los casos se ha podido llegar a identificar el gen responsable de la misma.

Enfermedades como el Parkinson, Alzheimer, hemofilia, Síndrome de Down, multitud de patologías cardíacas, etc. podrían beneficiarse directamente de los avances en el conocimiento del genoma pero, las aplicaciones diagnósticas y terapéuticas podrían incrementarse por un factor importante, considerando que la manipulación genética de células puede ser utilizada también de forma indirecta con fines terapéuticos, modificando o modulando la expresión génica de células normales, por ejemplo con el fin de potenciar la respuestas del sistema inmunitario, como es el caso de las vacunas. Esto abre también nuevas expectativas en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades adquiridas, como son el cáncer, las enfermedades infecciosas, etc. En este contexto, surge la terapia génica como una parte especializada de este conocimiento que pretende estudiar y evaluar la posibilidad de reparar, sustituir o silenciar parte del repertorio genético de las células, con fines terapéuticos

Debemos insistir en que el genoma humano es uno de los más valiosos patrimonios del ser humano y, por tanto, su información genética debe ser considerada como un patrimonio indiscutible de la humanidad.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 19 – JUNIO DE 2009

8. EXTRACCIÓN DE ADN

A continuación explicaré dos maneras diferentes para extraer ADN. En la primera de ellas se extraerá el ADN de células de la mucosa bucal y en la última el de células vegetales de un modo más sencillo y al alcance de todos.

8.1- Extracción de ADN de células animales

- Objetivo

En esta práctica realizaremos la extracción del ADN de células humanas procedentes de la superficie de la mucosa bucal. De esta manera podemos aplicar de manera directa los conocimientos teóricos adquiridos, poniendo de manifiesto la estructura fibrilar del ADN y el extraordinario grado de empaquetamiento que éste tiene en el núcleo celular.

- Material necesario:

- Agua mineral
- Detergente tipo lavavajillas
- Alcohol absoluto *muy frío*
- Sal común (NaCl)
- Cucharillas de plástico
- Vasos de precipitados de 50ml
- Pipeta o pipetas Pasteur
- Palillos o varillas de vidrio
- Portas
- Colorante básico (hematoxilina)

- Fundamento

El ADN se encuentra en el interior del núcleo celular, disperso y muy replegado, unido a proteínas para formar la cromatina. Para extraerlo es necesario romper las células para separar el núcleo, romper éste para liberar el ADN, separarlo de las proteínas y precipitarlo para extraerlo de la solución.

Aparecerá como un agregado de fibras blanquecinas que se adhieren a la varilla de vidrio o al palillo. Por último, se puede conservar en alcohol o bien situarlo sobre un porta, teñirlo con un colorante básico y observarlo al microscopio.

- Procedimiento

1. Preparar un tubo de ensayo con alcohol absoluto (también vale etílico de 96°) por cada alumno y poner a enfriar lo máximo que sea posible, por ejemplo en baño de agua con hielo, mientras se realizan los pasos siguientes.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 19 – JUNIO DE 2009

2. Poner un poco de agua en un vaso y enjuagarse la boca enérgicamente durante al menos medio minuto para arrastrar el mayor número posible de células de descamación de la mucosa bucal (antes de hacerlo conviene haber tragado saliva para eliminar la acción de los enzimas contenidos en ella).
3. Mientras tanto poner una pequeña cantidad de agua destilada (o mineral) en el mismo vaso, unos 20ml, y añadimos dos pizcas de sal común y un par de gotas de detergente lavavajillas, removiendo suavemente para disolver estos componentes evitando la formación de espuma.
4. Expulsar el agua en el vaso de precipitados sobre la solución anterior y remover con la cucharilla suavemente durante varios minutos para que actúen la sal y el detergente, evitando la formación de espuma.
5. A continuación, añadir la solución suavemente al tubo de ensayo que contiene el alcohol muy frío dejándola resbalar por la pared del tubo inclinado. El filtrado, más denso que el alcohol y algo turbio, se deposita en el fondo del tubo. Dejar reposar durante 2 ó 3 minutos sin moverlo en absoluto. El alcohol formará un sobrenadante por encima de la fase acuosa en la que se encuentra el ADN en disolución provocando que éste precipite.
5. Esperar unos minutos mientras el ADN precipita en la interfase alcohol-agua formando una masa blanquecina que asciende lentamente formando un grumo de aspecto algodonoso.
6. Recoger el ADN utilizando un palillo, una varilla de vidrio o una pipeta Pasteur. Para ello se introduce en la interfase y se gira con suavidad mientras se extrae lentamente.
7. Se puede depositar una pequeña cantidad sobre un porta y teñir 3 minutos con un colorante básico; luego observar al microscopio.

8.2- Extracción de ADN de células vegetales.

Puesto que el método explicado en el apartado anterior puede no sea posible desarrollarlo en un centro de enseñanza por falta de material (reactivos...), indicaré un método que se puede realizar perfectamente en un IES, facultad o incluso en casa. La principal diferencia con el anterior es que en este caso el ADN es de origen vegetal y no humano.

En este caso la extracción de ADN de una muestra celular (cebolla, ajo, tomate...) se basa en el hecho de que los iones salinos son atraídos hacia las cargas negativas del ADN, permitiendo su disolución y posterior extracción de la célula.

- Materiales

- ✓ Una muestra vegetal (cebolla)
- ✓ Agua destilada o mineral
- ✓ Sal de mesa
- ✓ Bicarbonato sódico
- ✓ Detergente líquido o champú
- ✓ Alcohol isoamílico a 0°C
- ✓ Batidora



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 19 – JUNIO DE 2009

- ✓ Nevera
- ✓ Colador
- ✓ Vaso
- ✓ Tubo de ensayo
- ✓ Varilla fina

- Realización

1. Preparar el tampón con los siguientes ingredientes y mantener en la nevera o en un baño de hielo triturado:
 - 120 ml de agua, si es posible destilada y si no mineral. No usar agua del grifo.
 - 1,5 g de sal de mesa.
 - 5 g de bicarbonato sódico.
 - 5 ml de detergente líquido o champú.
2. Elegir la muestra que va a proporcionar el ADN entre los vegetales que pueda haber en la cocina (cebolla, ajo, tomates, etc.) y cortarla en cuadraditos.
3. Triturar la muestra con un poco de agua en la batidora accionando las cuchillas a impulsos de 10 segundos. Así se romperán muchas células y otras quedarán expuestas a la acción del detergente.
4. Mezclar en un recipiente limpio 5 ml del triturado celular con 10 ml del tampón frío y agitar vigorosamente durante al menos 2 minutos. Separar después los restos vegetales más grandes del caldo molecular haciéndolo pasar por un colador lo más fino posible
5. Retirar 5 ml del caldo molecular a un tubo de ensayo y añadir 10 ml de alcohol isoamílico enfriado a 0°C. Se debe dejar escurrir lentamente el alcohol por la cara interna del recipiente, teniendo éste inclinado. El alcohol quedará flotando sobre el tampón.
6. Se introduce la punta de una varilla estrecha hasta justo debajo de la separación entre el alcohol y el tampón. Remover la varilla hacia delante y hacia atrás y poco a poco se irán enrollando los fragmentos de mayor tamaño de ADN. Pasado un minuto retirar la varilla atravesando la capa de alcohol con lo cual el ADN quedará adherido a su extremo con el aspecto de un copo de algodón mojado.

Lo que se ha hecho ha sido lisar (romper) las células vegetales mediante un detergente, vaciar su contenido molecular en una disolución tampón en la que se disuelve el ADN. En ese momento, el tampón contiene ADN y todo un surtido de restos moleculares: ARN, carbohidratos, proteínas...Las proteínas asociadas al ADN, de gran longitud, se fraccionan en cadenas más pequeñas y separadas de él por acción del detergente. Finalmente se extrae el ADN de esa mezcla de tampón y detergente, para usando el alcohol isoamílico (probablemente el único reactivo de esta práctica que no suele haber en una cocina).



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 19 – JUNIO DE 2009

El producto filamentososo obtenido de la extracción no es ADN puro ya que, entremezclado con él, hay fragmentos de ARN. Una extracción "profesional" se realiza añadiendo enzimas que fragmentan las moléculas de ARN e impiden que se unan al ADN.

9. CONCLUSIÓN

Desde mi punto de vista pienso que ha quedado bastante claro qué es el ADN, cuál es su importancia y cómo el desarrollo de la ciencia ha permitido llevar a cabo el Proyecto del Genoma Humano, y todo lo que éste implica.

La realización de la práctica explicada en el apartado 8 permite, a todos aquellos que la realicen, ver de una manera directa su propio ADN, por lo que si se realiza en un IES se consolida de manera práctica los conocimientos adquiridos en el ámbito de los ácidos nucleicos y más concretamente del ADN.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Páginas Webs:

- www.wikipedia.org
- www.explora.cl
- www.fai.unne.edu.ar
- www.bioapuntes.cl
- www.recursos.cnice.mec.es/biosfera

- Libros:

- Inciarte, M.(2003) "*Biología XXI*". Madrid: McGraw-Hill.
- Alberts,B.(2004)"*Biología Molecular de la Célula*". Barcelona: Omega.

Autoría

- Nombre y Apellidos: Belén Fernández Maroto
- Centro, localidad, provincia: IES Jesús del Gran Poder, Dos Hermanas, Sevilla
- E-mail: bfmaroto@gmail.com