

UNA TÉCNICA DE EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS PARA NOPAL

1. INNOVACIÓN TECNOLÓGICA. Técnica de extracción de ácidos nucleicos de nopal (*Opuntia spp*). Por la importancia económica que el nopal representa para el Estado, se modificaron técnicas de extracción de ácidos nucleicos, para la obtención de ADN y ARN sin contaminación con polisacáridos, como material de alta calidad para trabajos de biología molecular

2. PROBLEMAS A RESOLVER. El primer paso hacia la aplicación de la biología molecular en cualquier especie, es la disponibilidad de técnicas de extracción de ácidos nucleicos de alta calidad. Al respecto, no existen informes previos de extracción de ADN y ARN de nopales.

3. RECOMENDACIÓN PARA SU USO. Se utiliza porciones de clorénquima sin epidermis de tejido joven (cladodios no mayores de 8 cm.) los cuales se cortan en trozos sumamente pequeños y delgados (5 mm). Se hace un lavado con agua corriente del grifo por 3 minutos. El material lavado se deja secar en una estufa a 40°C por 2 horas. Posterior a ello, se muelen en nitrógeno líquido hasta convertir el tejido en un polvo muy fino. *Para extracción de ADN* se utilizan 100 mg de tejido molido el cual se coloca en un tubo Eppendorf de 1.5 ml; a este se le aplican 600 µl de Buffer de extracción (1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl pH 8.0, 2 % CTAB w/v, 1 % de β-mercaptoetanol y PVPP 0.5%) agitando la mezcla hasta homogeneizar. Las muestras son incubadas por 20 minutos a 65 °C. (Cada 3 minutos se homogenizan). Después de la incubación se le agregaron 600 µl de cloroformo-isoamil alcohol (24:1) (frío), y son mezcladas con agitación por 15 minutos. Los tubos se centrifugan a 13,000 rpm por 15 minutos (aquí se forman tres fases), y el sobrenadante es transferido a un nuevo tubo conteniendo 600 µl de isopropanol frío. Las muestras son mezcladas y dejadas a temperatura ambiente por 5 minutos. Enseguida se centrifugan a 13,000 rpm por 15 minutos, el sobrenadante es descartado y los tubos se invierten por 5 minutos para secar la pastilla de ADN. Posteriormente la pastilla es re- suspendida en 100 µl de buffer TE (Tris- EDTA 0.01 mM pH 8.0) y 100 µl de etanol al 100 %. Se coloca en baño maría por 9 min. Para disolver la pastilla de ADN y así, conformar el vial para posteriores estudios. *Para*

extracción de ARN, se utilizan 100 mg de tejido molido el cual se coloca en un tubo Eppendorf de 1.5 ml; a este se le agrega 1 ml de reactivo trizol (*Invitrogen life technologies*) en frío y se incuba por 15 minutos a 4°C. Luego se incuba a 25°C por 10 minutos, se le agrega 0.2 ml de cloroformo y se agita vigorosamente por un Minuto y se incuba a 30°C por 5 minutos más. Se centrifuga la muestra a 12,000 rpm por 15 minutos a 5°C. El sobrenadante es transferido a un tubo nuevo, al cual se le agrega 0.5 ml de alcohol isopropílico y se incuba por 10 minutos a 25°C. Al término, se centrifuga a 12,000 rpm por 10 minutos a 5°C. Se tira el sobrenadante y la pastilla de ARN se lava con 1 ml de etanol al 75%. La mezcla se homogeniza y se centrifuga a 7,500 rpm por 5 minutos a 5°C. Se tira el sobrenadante, y la pastilla se disuelve en una solución al 0.5% SDS.

4. ÁMBITO DE APLICACIÓN. La técnica de extracción de ácidos nucleicos, puede ser aplicada prácticamente a cualquier especie de cactáceas con altos contenidos de mucinas y glicosaminoglicanos.

5. DISPONIBILIDAD. El INIFAP cuenta con la tecnología disponible para aquellos investigadores, laboratoristas, y/o docentes interesados en la extracción de ácidos nucleicos (ADN o y/o ARN) de nopal para trabajos de biología molecular.

6. COSTO ESTIMADO. Se estima, que el costo de extracción de ácidos nucleicos por planta de nopal, es de \$80.00 pesos para ADN y de \$95.00 pesos para ARN.

7. RESULTADOS ESPERADOS. De aplicar la tecnología indicada, se espera obtener un rendimiento de entre 40 a 120 µg de ADN y de entre 20 a 30 µg de ARN.

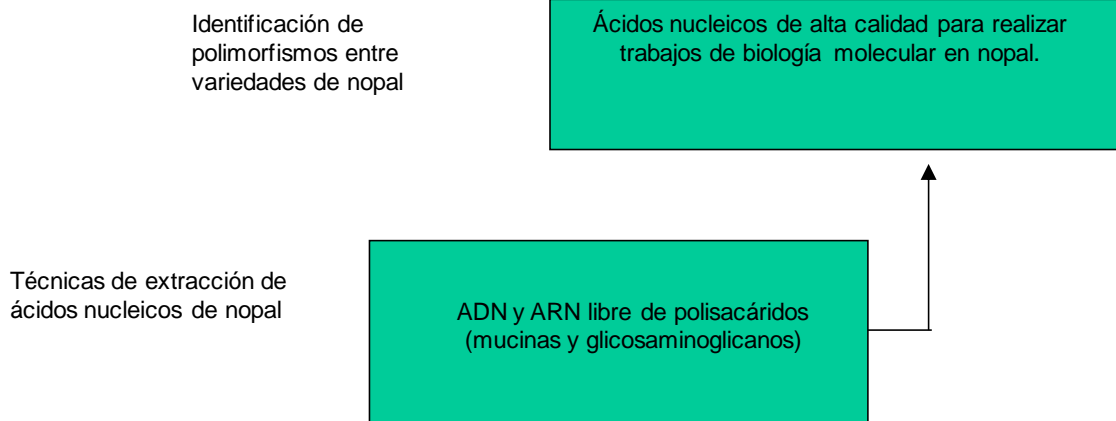
8. IMPACTO POTENCIAL. La aplicación de la tecnología garantiza una producción de ADN y ARN de alta calidad, propia para realizar trabajos de biología molecular.

Mayor información:
Luis Roberto Reveles Torres
Campo Experimental Zacatecas

UNA TÉCNICA DE EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS PARA NOPAL



Impacto potencial de la nueva tecnología



Ámbito de aplicación de la Tecnología

Principales Estados Productores de Nopal

