

28.1 Introducción.

Los ácidos nucleicos son el principal componente del núcleo de las células y normalmente están unidos a algunas proteínas formando nucleoproteínas.

Las nucleoproteínas necesitan un tratamiento previo que las descomponga en sus componentes para poder determinarlas.

Están formadas por:

- Ácido fosfórico.
- Hidratos de Carbono, RNA ribosa y DNA Desoxirribosa.

El RNA, es el responsable de trasladar la información del núcleo al citoplasma, siendo imprescindible para la síntesis de las proteínas. El DNA tiene la capacidad de autorreplicación y contienen almacenado las cargas hereditarias del individuo. - Bases nitrogenadas, Púricas (Adenina y Guanina) y Pireimidínicas (Citosina, Timina y Uracilo).

Para los controles hay que extraer el ácido que queramos demostrar, por medio de la hidrólisis ácida para el DNA y se realiza con ácido perclórico, neutralizando con carbonato sódico y lavando en agua.

Para extraer el RNA se utiliza ácido periódico y una enzima llamada ribonucleasa.

28.1.1 Método de Verde de Metilopironina.

- Verde de Metilo se fija al DNA.
- La Pironina (Y o G) que es derivado de los Xantenos, tiene afinidad por el RNA aunque no es selectivo.

Resultados:

- Núcleos: DNA verde.
- Citoplasma: RNA rojo.

Inconvenientes:

- Es necesario mantener el pH durante toda la técnica.
- El etanol tiene la propiedad de disolver la Pironina.

Al preparar el verde de metilo porque es un colorante que está contaminado con el violeta de cristal.

Controles de la técnica de Verde de Metilopironina:

Principalmente se pueden hacer dos controles:

- Digestión del RNA con Ribonucleasa.
- Hidrólisis ácida que se puede hacer en exceso para eliminar los dos ácidos nucleicos, o con ácido clorhídrico eliminando solo el DNA.

28.2 Variantes de la técnica de Verde de Metilopironina.

28.2.1 Variante de Brachet.

Como la técnica de Verde de Metilopironina es complicada, han aparecido variantes como la Variante de Brachet.

Reactivos:

- Verde de Metilo en tampón acetato a pH 4'2.
- Verde de metilo purificado (decantación con cloroformo),
- Le añadiremos Pironina 0'1 gr por cada 100ml de solución.

Ventajas:

- Soluciona la variación del pH manteniéndolo.
- Purifica el verde de metilo.
- Se usa alcohol butílico y no se va el color de la Pironina.
- Se seca con papel filtro.

28.2.2 Variante de Jordan.

Es una variante de Brachert, donde se han producido modificaciones:

- Prolonga el tiempo de coloración entre 30 y 60 minutos.
- Deshidrata con acetona seguida de una mezcla de acetona/ Xilol.
- Aclara con Xilol y monta.

28.2.3 Otras variantes.

- Variante de Papenheim-Unna.
- Variante de Lison.