



OBTENCIÓN DE ADN: ESTANDARIZACIÓN DE UNA TÉCNICA DE MUESTREO NO-INVASIVA EN CERDOS

Dolores- Ramos E.¹, Rojas-Martínez R. I.², Herrera-Haro J. G.², García-Contreras A.³, Garbay-Chávez J.G.¹, Peñuelas-Rivas C. G.¹

¹Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal CIESA-FMVZ-UAEM. ²Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. ³Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco.
eldegiovanna@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

Actualmente existen diversos métodos de extracción de ADN que han sido desarrollados para diferentes especies, algunos rápidos, eficientes y útiles en el aislamiento de ADN de alta calidad como los Kits de extracción comerciales; sin embargo, la mayoría de ellos son costosos y sirven para un reducido número de muestras, por ello la necesidad de establecer metodologías de extracción de ADN rápidas, sencillas y de bajo costo que permitan la obtención de ADN genómico de buena calidad, libre de compuestos secundarios, proteínas y polifenoles, los cuales inhiben la reacción de amplificación de ADN. Dado que la normativa mexicana restringe la movilización de semen y plasma sanguíneo dentro y entre las diferentes regiones de México como medida de bioseguridad, se estandarizó la técnica de extracción y purificación de ADN a partir de pelo por ser es una técnica no-invasiva, que permite con ello la evaluación de animales de distinta procedencia sin ser estresados a la hora de muestrear.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estandarizó una técnica no-invasiva de extracción y purificación de ADN a partir de pelo de cerdo. Se colectaron de cada animal 50 pelos con bulbo piloso de granjas de cerdo de diferentes regiones del país. La metodología desarrollada se basó en la combinación de diversos protocolos preestablecidos y modificados, tomando como referencia la propuesta por Sambrook *et al.* (1994). La extracción de ADN se realizó en un primer paso con la lisis de pelos a través del detergente SDS y posteriormente para la purificación del ADN total se aplicó el método de fenol-cloroformo-alcohol-isoamílico que permitió la remoción de los productos de degradación, finalmente se lavó con alcohol para eliminar residuos y se verificó la calidad del ADN en un gel de agarosa al 1%.

RESULTADOS

El método de extracción estandarizado fue eficiente resultando un ADN íntegro de buena cantidad y calidad. La electroforesis de los geles muestran la especificidad de la técnica de extracción de ADN del pelo de los porcinos empleados en este estudio (FIG. 1) en comparación con las técnicas convencionales de extracción de ADN como lo son a partir de sangre o semen de cerdo. Los resultados obtenidos mostraron que es una técnica de alta especificidad y repetibilidad.

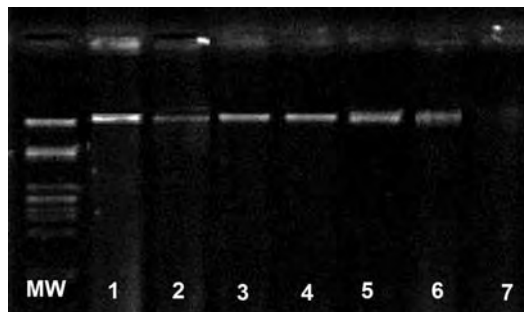


Figura 1. Gel de agarosa al 1%; (MW) marcador 1kb; (1, 2) ADN de sangre (3, 4) ADN de semen, (5 y 6) ADN de pelo, (7) control de agua.

DISCUSIÓN

Como medida de bioseguridad, la normativa mexicana restringe la movilización de semen y plasma sanguíneo dentro y entre las diferentes regiones de México por lo que se requiere de protocolos alternativos de análisis de muestras de ADN para las granjas de cerdos sin poner en riesgo el estado sanitario de los mismos. El método de extracción de ADN a partir de pelo, además de ser una técnica no-invasiva, es decir, el manejo con los animales es mínimo, nos ofrece ventajas como acceso a granjas altamente tecnificadas, fácil adquisición y conservación de las muestras y el transporte de las mismas dentro y entre diferentes regiones del país sin violar la normativa mexicana obteniendo resultados confiables.

Otra de las implicaciones importantes de ésta técnica se fundamenta en la importancia de la extracción del material genético y la posibilidad de identificar características de importancia económica en la producción de cerdos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso, V., A. B. Santana, W. Pirage-Junior, L. R. Goulart, H. da S. Diniz, M. F. Machaim. 2003. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 40:366-372.
- Hernández L. S. H., C. Lemus., M. R. Alonso. 2006. Rev. Científ., FCVLUZ., 16 (6), 648-654.
- Isler B. J., K. M. Irvin, S. M. Neal, S. J. Moeller and M. E. Davis. 2002. J. Anim. Sci. 80: 2334-2339.
- Rothschild M. F. 2003. Iowa State university. Ames, IA 50011. USA. Allattenyesztes es Takarmanyozas 52(Supplement) 91-99.