



EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE ADN DE PELO A PH MUY ÁCIDO.

Hidalgo, P.¹; Ackermann, E.¹; Figueiro, G.^{1 2} y Sans, M.¹

1: Departamento de Antropología Biológica, Facultad de Humanidades y Cs. de la Educación, Universidad de la República, Uruguay. drpedro.hidalgo@gmail.com; 2: Departamento de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay.

El aislamiento y purificación de ADN es el paso inicial en los protocolos de PCR. Uno de los problemas que se presentan es la dificultad en la obtención de la muestra; los métodos basados en muestras sanguíneas, si bien permiten la obtención de una gran cantidad de ADN, tienen como inconveniente la dificultad de obtención de la muestra así como la conservación de éstas previa a la extracción de ADN. Es por eso que se buscó un nuevo método que se basara en muestras fácilmente obtenibles incluso por la persona a estudiar, poco invasivo y sin problemas de conservación o transporte de las mismas, y que permitiera obtener gran cantidad de ADN con un costo reducido. La metodología propuesta permite la purificación de ADN a partir de pelo de diferentes regiones del cuerpo, en muestras obtenidas y conservadas en condiciones ambientales, lo cual resulta en un método sencillo y que permite la obtención de cantidades óptimas de ADN para su amplificación. Se tomó como muestra 5 pelos como mínimo, cortados en fragmentos de 5mm, iniciándose la extracción de ADN con la incubación con Proteinasa K, seguida por el uso de un tampón de lisis conteniendo SDS y 2-mercaptoetanol. Posteriormente, se empleó un tampón de acetato de sodio a pH 2.2 y etanol 95%(v/v) a -20 °C, con lavados de etanol 70%(v/v) a 4°C. Las muestras de ADN se conservaron a -20 °C en buffer TE (Tris 10 mM-EDTA 1 mM). Los productos de PCR obtenidos a partir de diluciones de extracto al 10% y al 5% fueron verificados por medio de electroforesis en gel de agarosa al 2%(p/v), a 4 V/cm, coloreado con bromuro de etidio (0.5 µg/µl) y observados en un transiluminador UV. La amplificación con cebadores de la región HVI mitocondrial y de los cromosomas X e Y, comparados con los patrones de ADN extraídos de sangre periférica evidenció la presencia de bandas de amplificación equivalentes. Empleando BSA en la reacción de PCR se obtuvo bandas de amplificación de ADNmt de aproximadamente 1000 pb. Las muestras de ADN obtenidas resultaron óptimas para la realización de la PCR, tanto del ADN nuclear como del ADN mitocondrial con concentraciones que variaron de 1 a 30 ng/µl, dependiendo de la cantidad de pelos. El procedimiento que se utilizó disminuyó los costos en unas diez veces, respecto a otros protocolos comerciales.