



TIPIFICACIÓN DE HAPLOGRUPOS MITOCONDRIALES MEDIANTE *MULTIPLEX* PCR-AFLP

Motti, J.¹; Rodenak, B.¹; Bailliet, G.¹ y Bravi, C.¹

1: IMBICE, CCT CONICET, La Plata, Argentina josemotti@yahoo.com.ar

El estudio de mutaciones diagnósticas de haplogrupos del ADN mitocondrial es una herramienta de uso corriente en estudios antropológicos. Presentamos aquí un método de tipificación simplificada de haplogrupos que permite discriminar el origen continental de los linajes maternos presentes en poblaciones americanas utilizando sólo dos reacciones de PCR y electroforesis en gel de acrilamida. Los linajes maternos presentes en la actual población argentina derivan de tres fuentes principales: a aquellos derivados de las poblaciones indígenas (haplogrupos A-D) se sumaron los aportados por inmigrantes europeos y de Medio Oriente (asignables casi exclusivamente al super-haplogrupo N) y por las poblaciones de origen africano sub-sahareano (miembros del para-haplogrupo "L", Lx[M,N]). La determinación de los haplogrupos mitocondriales suele realizarse mediante secuenciación y/o la tipificación de una batería de mutaciones diagnósticas. Con el objetivo de agilizar y abaratar la caracterización del origen continental de los linajes maternos presentes en poblaciones cosmopolitas argentinas adaptamos un protocolo desarrollado por Umetsu (2005) para la co-amplificación alelo-específica de posiciones variables diagnósticas de haplogrupos mitocondriales humanos. Cada posición variable es analizada con un trío de cebadores, dos de los cuales son alelo-específicos y difieren en su longitud, permitiendo obtener fragmentos distinguibles por 3-7 pb según esté presente la base ancestral o la derivada. Seleccionamos cinco tríos de cebadores, específicos para los haplogrupos A, M8 (al que pertenece C), D, M y N, que permiten obtener amplicones de tamaños no superpuestos. Las cinco posiciones son analizadas simultáneamente mediante amplificación en una única reacción de PCR y los fragmentos, de entre 52 y 149 pb, son resueltos en geles de poliacrilamida al 10%. La delección de 9 pb es analizada mediante PCR-AFLP en forma independiente. Toda muestra no asignable a los super-haplogrupos M o N es considerada de origen africano, perteneciente al para-haplogrupo "L".