**MARCADORES MOLECULARES Y LA EXTRACCIÓN DE ADN**

**MOLECULAR MARKERS AND THE DNA EXTRACTION**

REINALDO VELASCO MOSQUERA1

**PALABRAS CLAVE:**

Marcadores moleculares, extrac-

ción de ADN, biología molecular,

diversidad genética.

**KEY WORDS:**

Molecular markers, ADN extraction,

PCR, molecular biology, genetic

diversity.

**RESUMEN**

*En el presente artículo se hace una breve descripción de los marcadores*

*moleculares y de las categorías y técnicas basadas en hibridación y en la*

*reacción en cadena de la polimerasa PCR. A continuación se hace una*

*esplicación detallada del método de extracción de ADN empleado en el labora-*

*torio de Biología Molecular de la Universidad Nacional de Colombia, sede*

*Palmira, para los estudios de diversidad genética, enfatizando en las reaccio-*

*nes que ocurren a lo largo del proceso de extracción.*

**ABSTRACT**

*In the present article a brief description of molecular markers, the categories*

*and techniques based on hybridizing and the chain reaction of polymerase*

*PCR is done. Next it is explained thorough of the ADN extraction method for*

*the genetic diversity studies employed in the molecular biological laboratory*

*of the National University, headquarters Palmira, emphasizing in the reactions*

*that occurs throughout the extraction process.*

**INTRODUCCIÓN**

Los marcadores moleculares o

marcadores ADN revelan sitios de

variación naturales a nivel de se-

cuencia de ADN. A diferencia de los

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Recibido para evaluación: Diciembre 10 de 2004. Aprobado para publicación: Febrero 10 de 2005.

1 M. Sc. Especialista en Biotecnología, Grupo de Investigación ASUBAGROIN FCA Unicauca.

Correspondencia: biotecnologia@unicauca.edu.co

marcadores controlados por genes

asociados a caracteres morfoló-

gicos (fenotipos de fácil identifica-

ción visual), las variaciones en los

marcadores de ADN no se mues-

tran por sí mismas en el fenotipo,

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Vol 3 No.1 Marzo 2005

porque pueden ser diferencias en un solo nucleótido

del gen o en un pedazo de ADN repetitivo.

Los marcadores moleculares relacionados a una ca-

racterística específica son de par ticular interés por-

que permiten identificar individuos que contengan

esa característica y diferenciarlos de los que no la

posean, es decir que dan información sobre la di-

versidad genética. Esto es un aspecto esencial en el

campo de la biología tanto aplicada como funda-

mental: Ecología, Biología de la Evolución, Taxo-

nomía, Agronomía, Biotec-nología, Microbiología,

Genética, etc (1).

Un gran número de técnicas moleculares puede ser utili-

zado para obtener marcadores de diversidad mediante la

detección de polimor-fismo a nivel de ADN (2).

La mayoría de los marcadores moleculares se clasifican

en dos categorías de técnicas que se basan en la hibrida-

ción o en la Reacción en Cadena de la Polimerasa. PCR:

**Marcadores detectados por hibridación.**

Dentro de estos se agrupan las técnicas que emplean

sondas para la detección de los marcadores. Las sondas

son fragmentos de ADN o ARN que contienen el código

complementario para una secuencia específica del

genoma. Las técnicas más usuales son: Polimorfismo

en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP),

Número variable de repeticiones en tandem (VNTR) y ADN-

Ships (Oligonucleotide arrays) (1).

**Marcadores basados en la PCR.**

Los marcadores identificados por amplificación del ADN

están basados en la reacción en cadena de la polimerasa.

La introducción de esta tecnología permitió nuevas po-

sibilidades para la detección del polimorfismo genético

(3). El polimosrfismo se observa debido a que la varia-

ción en la secuencia del genoma altera los sitios de re-

conocimiento del primer. Permite la generación de

grandes números de marcadores, su utilización n o es

técnicamente difícil y solo utiliza mínimas cantidades de

material genético. Las técnicas basadas en la PCR difie-

ren entre sí en la longitud y secuencia de los primers

empleados, condiciones de la PCR y en el método de

separación y detección de los fragmentos. Los marca-

dores de PCR emplean primers de secuencia arbitraria,

semiarbitraria o específica.

15

La selección de la técnica depende del objetivo trazado.

Las técnicas moleculares brindan información a diferen-

tes niveles. Todas tienen sus limitaciones y su aplicación

se determina en gran medida por la disponibilidad de los

recursos necesarios para ejecutar un sistema de marca-

dores moleculares. Entre los factores más importantes a

considerar están el contenido de información y el radio

múltiple que cada técnica puede brindar. El contenido de

información es el número de alelos que pueden ser de-

tectados por el marcador en un grupo de individuos. El

radio múltiple es el número de marcadores que pueden

ser generados en una simple reacción (1).

**EXTRACCION DE ADN**

La aplicación de las diferentes técnicas empleadas en

biología molecular para el análisis del genoma, depen-

de en gran medida de la habilidad para extraer el ADN.

Para lo cual se utilizan diversos métodos de extracción,

dependiendo del tipo de tejido a emplear. En el presente

trabajo se describirá el método de extracción de ADN de

robles colombianos Dellaporta (4) modificado, el cual

ha dado buenos resultados en los trabajos con plantas

adelantados en el laboratorio de Biología Molecular de

la Universidad Nacional sede Palmira (5).

Uno de los problemas al trabajar con plantas es la com-

posición de la pared celular, la cual dificulta el acceso al

interior para la extracción de todo su contenido, inclu-

yendo el ADN. Dicha pared se debe romper por acción

mecánica, pulverizando el tejido con hielo seco o con

nitrógeno líquido (6).

En seguida, se deben destruir las membranas celulares de

manera que el ADN, acompañado de otros compuestos

(proteínas, enzimas, carbohidratos), quede disponible.

La mezcla de tejido así obtenida se agrega a una solu-

ción buffer o tampón de extracción, en presencia de

agentes quelantes, de soluciones de baja o alta fuerza

iónica (para que sea soluble el ADN) (7) y de altas con-

centraciones de NaCl. Los agentes quelantes (como el

EDTA) se emplean para proteger el ADN de la acción de

enzimas nucleasas; ellos capturan los iones magnesio

y no permiten que actúen como cofactores de las

nucleasas. Las altas concentraciones (5 M) de NaCl se

emplean para prevenir la contaminación de la muestra

con polisacáridos que afectan la pureza del ADN, pu-

diendo inhibir la actividad de algunas enzimas como

**Gracias por evaluar Wondershare PDF Converter Pro 4.0.5.**

**Sólo puedes convertir 5 páginas en la versión de prueba.**

**Para conseguir la versión completa, pide el programa desde:**

[*http://cbs.wondershare.com/go.php?pid=1032&m=db*](http://cbs.wondershare.com/go.php?pid=1032&m=db)