



EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO ASISTIDA POR SONICACIÓN EN UNA MATRIZ VEGETAL

Mitsuky Soraya Serafín-García¹, Juan José Gaytán-Andrade¹, Rita María Velázquez-Estrada², Alejandra Chacón-López², Porfirio Gutiérrez-Martínez² y Luis-Angel Xoca-Orozco². ¹Instituto Tecnológico Superior de Tamazula de Gordiano. Carretera Tamazula-Santa Rosa # 29. CP: 49650, Jalisco, México. ²Instituto Tecnológico de Tepic. LIIA. Laboratorio de Biotecnología. Av. Tecnológico # 2295 Lagos del Country. Tepic, Nayarit, México.

Palabras clave: ADN, ultrasonidos, células vegetales

Introducción.

Debido a que se ha extendido el estudio genómico más allá de los organismos modelo, algunas técnicas aplicadas en éstos no resultan tan eficientes al aplicarlas en organismos no modelo, es por ello que se implementan nuevas técnicas con el fin de hacer más eficiente la extracción de los ácidos nucleicos que puedan funcionar en casos específicos. La extracción de ADN asistida por ultrasonidos, es un método con el que se podría aumentar la calidad y el rendimiento, así como también reducir el tiempo y los costos de extracción ⁽¹⁾. La información relacionada sobre la aplicación de este sistema para extracción de ADN en células vegetales es limitada, sin embargo existen reportes donde se utiliza la sonicación en la extracción de metabolitos como polifenoles ⁽²⁾, obteniendo la disminución del tiempo y costos de extracción.

El objetivo de este trabajo fue realizar la extracción de ADN asistida por sonicación, utilizando como matriz vegetal el fruto de carambolo (*Averrhoa carambola*).

Metodología. Se recolectaron hojas maduras de carambolo, las cuales fueron lavadas y cortadas en segmentos de 0.5 cm². A 0.5 g de muestra se le adicionó 30 mL de buffer CTAB al 3 %, precalentado a 60 °C y se sometió a los diferentes tratamientos de sonicación (Cuadro 1) realizados bajo un diseño experimental factorial fraccionado del cual se obtuvieron 9 tratamientos. Para los tratamientos con sonicación se utilizó un equipo de ultrasonido UP-400s. Posterior a la sonicación se utilizó el protocolo de extracción de ADN convencional de Murray y Thompson (1980) ⁽³⁾, con algunas modificaciones. Para confirmar la presencia de ADN total, las muestras se examinaron por electroforesis en gel de agarosa al 2%; mientras que la concentración y la pureza del ADN extraído se realizaron en un equipo Genoma Nano Jenway ⁽⁴⁾.

Cuadro 1. Diseño experimental factorial fraccionado 3³⁻¹

Tmt	Tiempo (min)	Ciclos	Amplitud %	Tmt	Tiempo (min)	Ciclos	Amplitud %
A	5	0.2	20	F	10	0.6	60
B	5	0.4	60	G	15	0.2	60
C	5	0.6	40	H	15	0.4	40
D	10	0.2	40	I	15	0.6	20
E	10	0.4	20				

Resultados. En la extracción con el método sin sonicar se presentan bandas muy concentradas (Figura 1) y con poca fragmentación del ADN. La extracción asistida por sonicación fue efectiva para los tratamientos de 15 min, con ciclos de 0.4 y 0.6 y con una amplitud de 20 y 40 %. En los tratamientos H e I la relación de las absorbancias (A_{260}/A_{280} y A_{260}/A_{230}) fue de 1.8 y 2.0, respectivamente, sin embargo el rendimiento fue menor, así como también se presentó fragmentación del ADN lo cual pudiera afectar el buen desempeño para las técnicas utilizadas en biología molecular ⁽⁵⁾.

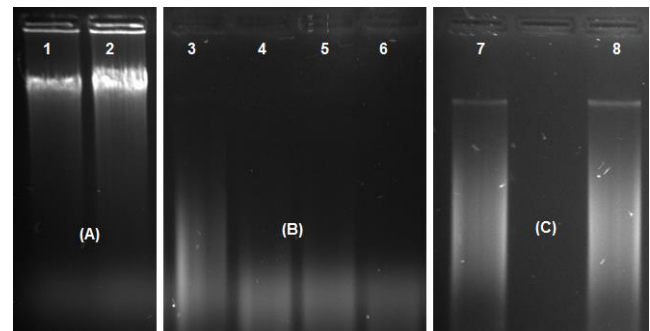


Figura 1. Integridad de las bandas características de ADN. (A) Extracción convencional sin utilizar sonicación; (B) y (C) Extracción asistida por sonicación: Carriles 3-6, tratamientos A, B, C y D, respectivamente. Carril 7 y 8, tratamiento H e I, respectivamente.

Conclusiones. Mediante extracción de DNA asistida por ultrasonido se obtuvo ADN de buena calidad y pureza ideal, sin embargo las condiciones de los tratamientos de sonicación utilizadas no permitieron obtener un rendimiento adecuado, por lo cual se debe de optimizar el desarrollo del proceso de sonicación.

Agradecimiento. Al Laboratorio de Biotecnología-LIIA del Instituto Tecnológico de Tepic, por las facilidades otorgadas para la realización de este proyecto.

Bibliografía.

1. Neerathilingam, M. Mysore, S., y Gandham, S. (2014). *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 448: 45–49
2. Quiroz-Reyes, C. Aguilar-Méndez, M. Ramírez-Ortiz, M y Ronquillo-De Jesús (2013). *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 12(1): 11-18.
3. Murray, M., y Thompson, F. (1980). *Nucleic Acids Research*. 8: 4321–4325.
4. Alejos, L. Aragón, M., y Cornejo, A. (2014). Extracción y purificación de ADN. En: *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos*. Cornejo, A. Serrato, A. Rendón, B y Rocha, M. INECC-Semarnat. México: 1-25
5. Tang, Y. Sefers, S. Li, H. Kohn, D y Procop, G. (2005). *Journal of Clinical Microbiology* 43: 4830-4833.