



DESARROLLO DE UNA METODOLOGIA DE PCR MULTIPLE PARA LA DETECCION DE EVENTOS TRANSGENICOS EN PLANTAS

Mariana Cantu Iris¹, Raúl Rodríguez Herrera¹, Manuel Humberto Reyes Valdes², Cristóbal Noe Aguilar Gonzalez¹ y Juan Carlos Contreras Esquivel¹

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas.

²Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Fitomejoramiento. Saltillo, Coahuila, México. E-mail: rrh@usquim.uadec.mx

Palabras claves: *cry IAB*, *epsps*, *als*

Introducción. En la detección de organismos genéticamente modificados la técnica más utilizada es PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) simple, que permite copiar un segmento específico del genoma (Bobadilla y Gamba, 1996). Con la PCR simple solo es posible detectar 1 evento a la vez, la detección de dos o más secuencias involucra el aumento de la cantidad de reactivos y la posibilidad de error al realizar las reacciones por separado. Una alternativa es la detección simultánea de diferentes genes por la PCR múltiple donde el principal desafío es el evitar la formación de dímeros de iniciadores (Chou, 1992). El presente trabajo tiene como objetivo la adaptación de la técnica PCR para la detección simultánea de 3 secuencias transgénicas

Metodología. Se utilizó el tejido transgénico de plántulas de maíz, soya y algodón. La optimización de la PCR múltiple se realizó utilizando diferentes concentraciones de MgCl₂ (3.37, 0.73, 1.10, y 1.47mM) y de temperaturas de acoplamiento (de 55.1°C a 70.2°C), las condiciones de PCR fueron, 35 ciclos de 3 etapas cada uno, la etapa de desaturación a 94°C durante un minuto, y la etapa de elongación a 72°C por un minuto. Se adaptó la técnica de PCR múltiple para la detección simultánea de tres genes transgénicos *cry IAB*, *epsps* y *als* (Cuadro 1). Con el software FastPCR, se evaluó la formación de dímeros entre iniciadores.

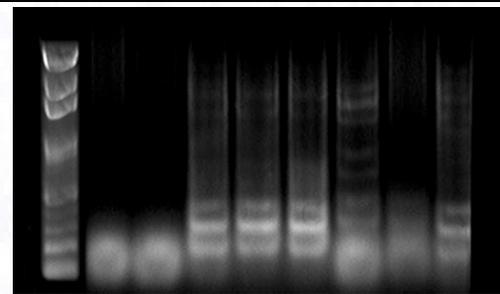
Resultados y discusión. De los 18 iniciadores evaluados con el software FastPCR, solo se presentaron 3 combinaciones de interacciones entre iniciadores, las cuales fueron evitadas para mejores resultados; de esta forma se logró la amplificación de 3 segmentos transgénicos en una misma reacción (Figura 1). La concentración del MgCl₂ óptima fue de 1.47mM y la

temperatura de acoplamiento óptima para tres pares de iniciadores fue de 63.3°C.

Conclusiones. La optimización de la técnica de PCR múltiple para la detección simultánea de 3 genes resultó en una detección eficiente y específica, además de que se realiza en un menor tiempo y a un costo más bajo.

Cuadro 1. Genes y secuencias de iniciadores utilizados en el presente estudio.

Gen o secuencia	Secuencia del iniciador
<i>als</i>	F-5'-gggttacgcacgcgccaccgg-3' R-5'-ggctgatcccagtcaggtatc-3'
<i>cry Iab</i>	F-5'-accatcaacagccgctacaacgacc-3' R-5'-tggggaacaggctcacgatgtccag-3'
<i>epsps</i>	F-5'-tggcgcccaaagctgcatggc-3' R-5'-ccccaaagtctcaaatctcaagt-3'



▲ 397pb
▲ 356pb
▲ 184pb

Figura 1. PCR múltiple (tres eventos) A, B, C y D muestras de maíz, E, F, G y H muestras de soya. M marcador molecular 100pb. C, D, E, F y H amplificación de los eventos *cry1Ab* (184pb), *epsps* (356pb) y *als* (397pb).

Bibliografía

Bobadilla NA, Gamba G. (1996) Rev Invest Clin. 48:401-406
Chou Q., Russell M., Brich D.E., Raymond J., Bloch W. (1992). Nucleic Acid Reserch. 20(7), 1717-1723.