

DETERMINACIÓN DEL UMBRAL DE DETECCIÓN DE LOS MÉTODOS ELISA Y PCR EN HARINAS CERTIFICADAS DE MAÍZ *B.t.*

Ma. del Carmen Fong, Javier Plasencia, Maricarmen Quirasco, y Amanda Gálvez*.
Depto. Alimentos y Biotecnología. Facultad de Química, UNAM. Cd. Universitaria. México, D.F. 04510.
Fax: 5622-5329, galvez@servidor.unam.mx

Palabras clave: ELISA, PCR, Maíz *B.t.*

Introducción. En México como en otros países se discute aún la importancia de la detección de ADN y de las proteínas expresadas en productos transgénicos, la reglamentación, y el etiquetado e identificación de los alimentos que se producen con los cultivos manipulados genéticamente. Los métodos moleculares para la detección de secuencias transgénicas mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) junto con el método ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) para la detección de proteínas heterólogas pueden ser aplicados en conjunto para cubrir estas necesidades.

En este trabajo se pretende conocer los límites de detección de los métodos ELISA y PCR en harinas de maíz *B.t.* certificadas, y examinar algunas muestras de maíces criollos.

Metodología. El promotor 35S del virus de mosaico de la coliflor (CaMV35S) es el más usado en las construcciones genéticas comerciales actualmente en el mercado, por lo que se utilizó como ADN blanco. Muestras de harinas de maíz certificadas transgénicas: Bt-11, Bt-176 y MON-810 (Fluka y IRMM) se utilizaron para establecer los límites de detección, por PCR del promotor CaMV35S, y por ELISA de la proteína Cry1Ab, en dichas muestras. Los cebadores específicos se diseñaron con el programa Primer 3, basándose en la secuencia publicada del promotor CaMV35S (1 y 2) cuya especificidad fue comprobada con anterioridad en nuestro grupo. Se utilizó el kit Bt-Cry1Ab de placas de ELISA (Agdia).

Resultados y discusión. En la Fig. 1. se muestran los productos de PCR de diluciones de harina certificada de maíz Bt-11 (2%) con harina de maíz chalqueño (no transgénica) hasta 0.002%.

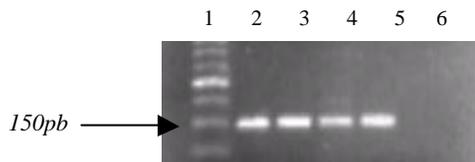


Figura 1. Productos de la amplificación del promotor 35S a partir de harinas de Bt-11 del 2% al 0.002% en un gel de Agarosa al 2%

Carril 1: Marcador Molecular 50pb, Carril 2: Harina de 2%
Carril 3: Dilución al 0.2% Carril 4: Dilución al 0.02%,
Carril 5: Dilución al 0.002% Carril 6 : Blanco (control negativo)

Todas las diluciones analizadas resultaron positivas, es decir, presentan el fragmento de 151 pb correspondiente al promotor

CaMV35S.

Al seguir diluyendo las muestras, primero con maíz y posteriormente con agua, se logró detectar concentraciones tan bajas como 0.0002%. En el Cuadro 1 se presentan las diluciones correspondientes a la variedad Bt-11.

Cuadro 1. Detección de 35S en diluciones de Bt-11 con maíz no transgénico y con agua

Muestra y dil. con maíz no transgénico	Diluciones con agua	Concentraciones finales (detectables o no-detectables)
Bt-11 (2%)	1/1000	0.002%
0.2%	1/100	0.002%
0.2%	1/1000	0.0002% N.D.
0.02%	1/100	0.0002%
0.02%	1/1000	0.00002% N.D.
0.002%	1/10	0.0002%
0.002%	1/100	0.00002% N.D.

Con ELISA sólo se logró detectar la proteína en las harinas certificadas de Bt-11 y MON810, y en Bt-176 no se logró detectar ya que la proteína no se expresa en el grano en este evento particular.

En los maíces criollos ensayados en este estudio, no se logró detectar por ELISA o PCR, ni secuencias transgénicas ni proteínas heterólogas expresadas.

Conclusiones. Los límites de detección encontrados son: 0.0002% para PCR y 2% para ELISA (Bt-11 y MON810). Al disminuir la cantidad de ADN molde, aumenta la sensibilidad de la técnica de PCR para el sistema de extracción utilizado. En Bt-176 no fue posible detectar proteína en grano, por lo tanto, se obtendrían falsos negativos si sólo se realizan ensayos inmunológicos. Con una misma cantidad de ADN molde, al aumentar la cantidad de agua en la dilución parece disminuir la sensibilidad de la técnica de PCR. De los maíces criollos examinados por ambos métodos, no se detectó presencia de maíz *B.t.*

Agradecimiento. Proyecto financiado por DGAPA PAPIIT-UNAM IN-218101

Bibliografía.

- Lipp, M., Pietsch, K., Brodmann, P., Pauwels, J., Anklam, E., (1999) IUPAC Collaborative Trial Study of a Method to Detect Genetically Modified Soy Beans and Maize in Dried Powder, *Journal of AOAC International*. Vol. (82, No.4).
- <http://www.genome.wi.mit.edu/>

