



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



EXTRACCIÓN DE ADN: EL PRIMER PASO EN ANÁLISIS METAGENÓMICOS.

Máximo Cancino Gómez, Mariana Yadira López Chávez, David Herrera López y Griselda Karina Guillén Navarro.
El Colegio de la Frontera Sur. Departamento de Biotecnología Ambiental. Tapachula, Chiapas. C.P. 30700.
Correo electrónico: maximocancino@gmail.com

Palabras clave: composta, extracción de ADN, sedimento.

Introducción. El aislamiento de ácidos nucleicos, constituye el primer paso en los análisis metagenómicos. A pesar de que no existe un protocolo general de extracción y purificación aplicable a todas las muestras, se han reportado diversos métodos de extracción de ADN total para la construcción de bancos metagenómicos. Para muestras con alto contenido de materia orgánica, como las de suelo, los protocolos reportados han sufrido modificaciones que consisten en hacer lavados con soluciones amortiguadoras para eliminar sustancias contaminantes. A pesar de ello, se han utilizado procesos subsecuentes de purificación. En el caso de ambientes típicamente ácidos, ricos en materia orgánica, como sedimentos de manglar (1) y en muestras con alto contenido de compuestos fenólicos, como las compostas de desechos agroindustriales (2), se dificulta la obtención de ADN total de alta calidad. El objetivo del presente estudio fue evaluar métodos de extracción de ácidos nucleicos totales a partir de muestras difíciles.

Metodología. Se probó la extracción de ADN total de muestras de suelo, pulpa fermentada de café y sedimentos de manglar con los métodos que se mencionan en la Tabla 1. Los kits comerciales utilizados: DNA Stool (Qiagen®), ZR Miniprep (Zymo®) y Power Soil (Mobio®)

Resultados. Como se observa en la Tabla 1, se obtuvo ADN con los métodos de lisis enzimática (proteínasa K y proteínasa K + lisozima) para las tres muestras. Sin embargo, a pesar de que la mayoría de los métodos evaluados funcionaron con la muestra de suelo, solamente en algunos casos se extrajo ADN para las muestras de pulpa fermentada de café y de sedimento de manglar. Es posible que algunos métodos funcionen en sedimentos y no en pulpa, o viceversa, debido a que existen diferencias en cuanto a sus características. Por ejemplo, la microbiota de sedimento puede adherirse a partículas que se hallan en una matriz de exopolisacáridos, típicamente presentes en estos nichos, lo que podría obstaculizar la etapa de lisis celular. Mientras que, la pulpa de café por encontrarse en un proceso de fermentación presenta cambios constantes tanto en sus características fisicoquímicas como microbiológicas que pueden dificultar la extracción de los ácidos nucleicos.

Los protocolos que, además de la ruptura vía enzimática incluyen tratamiento químico y, en el caso del método con lisozima, también lisis física, permiten extraer no sólo una mayor cantidad de ADN sino también una muestra más representativa de la diversidad de microorganismos (1).

Tabla 1. Relación de procedimientos de extracción de ADN total efectuados en las muestras evaluadas.

Método	Muestra		
	Suelo de jardín	Sedimento de manglar	Pulpa de café fermentada
Fenol/cloroformo	+/-	+	-
Kit Mobio®	+	-	-
Kit Qiagen®	+	-	-
Kit Zymo®	Na	-	+
Lisis proteínasa K (3)	+	+/-	+
Lisis proteínasa K+ lisozima (4)	+	+	+/-
Lisis física (5)	-	Na	+

Nota. Na: método no aplicado, +/-: ADN parcialmente degradado.

Conclusiones. Los métodos de extracción de ácidos nucleicos totales que incluyen procesos integrados de lisis, generan mejores resultados que los métodos con un solo proceso de lisis.

Agradecimiento. Este proyecto recibe financiamiento de CONACYT: CB-2008-01-101389.

Bibliografía.

- Jian, Y., Wu, J., Yu, K., Ai, C., Zou, F. y Zhou, H. (2011) *J. of Biosci and Bioeng.* 111 (2):153-157.
- Ramírez-Coronel, M. A., N. Marnet, V. S. Kumar K., S. Roussos, S. Guyot y C. Augur (2004). *J. of Agricultural and Food Chemistry* 52 (5):1344-1349
- Yang, Z., Xiao, X. Zeng, G. M., Xu, Z. Y. y Liu, Y. S. (2007) *Appl Microbiol Biotechnol* 74:918-925.
- Nelson, D., Ohene-Adjei, S., Hu F., Cann, I. y Mackie, R. (2007) *Microb Ecol* 54 :252-263.
- He, J., Xu, Z. y Hughes, J. (2005) *Soil Biology & Chemistry* 37: 2337-2341.