

COMPARACIÓN ENTRE CUATRO MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ADN DE RESTOS ÓSEOS

Leidy Mariana Yepes-Gómez¹, Andrés David Hernández-Gil¹, Hernando del Castillo-Sabogal¹, Laura Alejandra Ricaurte-Contreras¹.

¹Laboratorio de Investigación Genética de Restos Humanos – Seccional Meta. Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses. hernando.delcastillo@medicinalegal.gov.co

Palabras Clave: ADN, Fenol-Cloroformo, PrepFiler, Restos óseos, Sílice.

Introducción

En la identificación de restos humanos, el análisis de ADN es una herramienta importante. Sin embargo, la obtención de éste es un reto debido a la naturaleza de los restos óseos, como su dureza estructural, su alto contenido de calcio, proteínas, polisacáridos y lípidos. Adicionalmente, las condiciones medioambientales (humedad, pH, temperatura, presencia de microorganismos, exposición a radiación, etc.) y la composición del sustrato donde se hallen (ácidos húmicos, fúmicos, etc.) son determinantes en la calidad y cantidad de ADN preservado en dichas muestras.

Por lo anterior, se analizaron cuatro métodos de extracción, comparando un grupo de muestras de ADN control (sangre) contra ADN extraído de restos óseos siguiendo las recomendaciones de los fabricantes.

Investigación

Metodología



Resultados

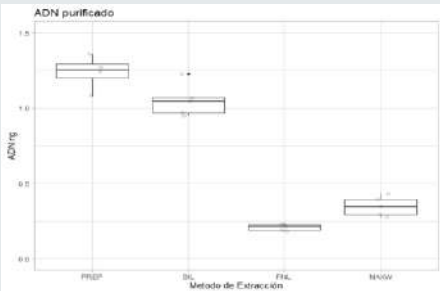
La cuantificación del ADN purificado a partir de sangre revela que las muestras en condiciones idóneas tienen una recuperación de ADN óptimo, indistintamente del método que se emplee, destacando los métodos de PrepFiler y Sílice (Gráfica 1).

El panorama cambia cuando se emplean muestras de restos óseos. Si bien, hay recuperación de ADN, no existen diferencias significativas entre los tratamientos.

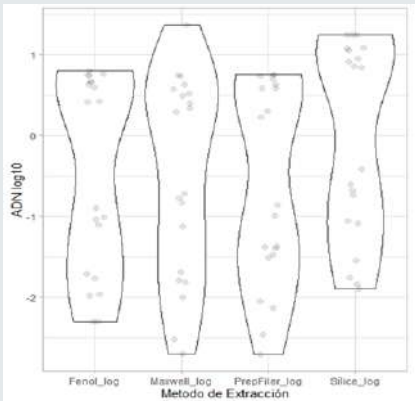
También, se observa que el comportamiento de los datos se divide en dos grupos, confirmado mediante análisis multimodales (Gráfica 2). Por lo cual, se realizaron análisis dividiendo los datos en valores mayores y menores a 0.6ng/µl de ADN (Gráfica 3).

- >0.6ng/µl Se evidenció que sílice es el método que mejor recupera ADN.
- <0.6ng/µl No se encontraron diferencias entre métodos.

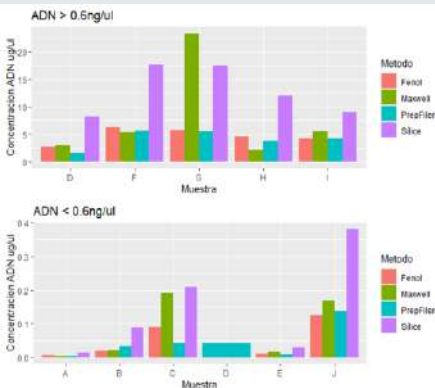
Lo anterior puede explicarse a la especificidad del kit empleado en la metodología de Sílice, el cual optimiza la obtención de fragmentos en un rango de 100 a 10.000pb.



Gráfica 1. Cantidad de ADN recuperado de sangre entre los diferentes métodos.



Gráfica 2. Cantidad de ADN obtenido de restos óseos en los diferentes métodos de extracción con ajuste escalar logarítmico.



Gráfica 3. Muestras de restos óseos agrupadas según cantidad de ADN obtenido para los diferentes métodos de extracción.

Conclusiones

- Se evidencia que la pureza del ADN es determinante en la interacción con su matriz de captura. Con ADN libre de contaminantes – muestra ideal como sangre -, cualquier método de purificación resulta adecuado para obtener cantidades suficientes para llevar a cabo los procesos de tipificación.
- Cuando el ADN se obtiene de restos óseos, la presencia de moléculas que son coextraídas en el proceso, limitan la recuperación de manera importante, dejando al sílice como una de las mejores opciones frente a los otros métodos.
- Es posible que los diferentes contaminantes como ácidos fúmicos, húmicos y ADN no humano, tiendan a comportarse similar al ADN de interés, lo que podría estar compitiendo en su interacción.

Declaraciones éticas

Los autores declaran que la investigación es de integridad científica y de total autonomía. También, declaran que no existe conflicto de intereses en torno al desarrollo de la investigación y que los insumos y equipos empleados hacen parte del INMLCF.

Referencias

