

Inicio

Acerca de Por Qué Biotecnología (Programa Educativo)

La Biotecnología

Recursos para la enseñanza de la biotecnología

El Cuaderno

Trabajos Prácticos

Glosario de términos de biotecnología

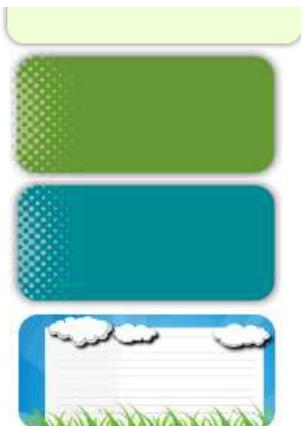
Links recomendados

Cursos y capacitaciones docentes

Dónde estudiar biotecnología

Suscríbese a publicaciones

Contáctenos



## Cuaderno N° 69

### ADN detective

#### El análisis del ADN y sus aplicaciones

En más de un caso ficticio o real se ha escuchado hablar del “análisis de ADN” para determinar parentescos e identificar criminales. Efectivamente, debido a que todos los individuos son diferentes, las moléculas de ADN permiten identificarlos y resolver casos de filiación y de criminología. Pero, el análisis de ADN tiene otras aplicaciones de interés para el hombre. Por ejemplo, sirve para diferenciar variedades de cultivos, identificar cepas de microorganismos causantes de enfermedades, reconocer animales valuados en miles de dólares (caballos de carrera, toros sementales), acelerar programas de mejoramiento genético de especies vegetales y animales, e identificar biodiversidad, entre otras aplicaciones.

El desarrollo de estas técnicas llegó de la mano de la genética humana, lo que trajo aparejado cuestionamientos éticos y sociales importantes. En esta edición de El Cuaderno se explicarán las técnicas que emplean ADN para identificar individuos y para otros fines.

#### Identificación de individuos: de las huellas dactilares al ADN

Cada individuo es único, y esa individualidad fue evidenciada en las huellas dactilares a fines del siglo XIX por Juan Vucetich, científico de la policía de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Vucetich ideó un sistema para identificar a las personas por el rastro que dejaban los dibujos de las yemas de sus dedos. El primer crimen resuelto en el mundo con este sistema fue en junio de 1892 en la ciudad de Necochea, provincia de Buenos Aires. Hoy se utilizan las huellas dactilares en todos los prontuarios policiales del mundo y en el Documento Nacional de Identidad de algunos países.

El siglo XX se caracterizó, desde el punto de vista científico-biológico, por tratar de entender la diferencia entre los individuos desde el punto de vista genético. Además, desde el ámbito criminalístico se buscaron herramientas del campo de la bioquímica que permitieran identificar individuos utilizando otras muestras y evidencias biológicas, además de las huellas dactilares. Así, comenzaron a utilizarse los grupos sanguíneos y moléculas que sirven como “marcadores” (por ejemplo, antígenos leucocitarios). Pero, su potencial resultó ser limitado ya que existe poca variabilidad entre personas para esos marcadores, y porque no siempre la muestra con la que se cuenta es suficiente para realizar las pruebas.

La muestra biológica ideal para caracterizar individuos sería aquella que contenga gran variabilidad entre individuos, que se pueda estudiar incluso con muy pocas cantidades e independientemente del paso del tiempo (horas, días, meses o años), que sea automatizable y relativamente fácil de interpretar. La solución la aportaría en la década de 1980 la biología molecular y los **polimorfismos del ADN**.

### Secciones de El Cuaderno N°69:

Teoría

Consideraciones Metodológicas

Actividades

Material de consulta

Ediciones destacadas de "El Cuaderno"

El Cuaderno N° 43:  
Datos de adopción y beneficios de cultivos GM 2013.2014

El Cuaderno N° 100:  
Biotecnología, una historia...

### Variabilidad o Polimorfismos del ADN

Todos los organismos tienen su ADN constituido a partir de las mismas cuatro unidades (adenina, citosina, timina y guanina). Por lo tanto, la diferencia entre los organismos radica en la secuencia de ADN, es decir, cómo estas unidades se combinan una detrás de otra a lo largo de los cromosomas. El genoma de los organismos está formado por secuencias específicas de ADN, o genes, que codifican para la síntesis de proteínas, y por el resto del ADN que no codifica para proteínas pero juega un papel importante en la estructura y función de los cromosomas. Las “secuencias no codificantes” constituyen una porción importante del genoma (por ejemplo, 98% en humanos y 15% en bacterias), y se encuentran separando un gen de otro, en los extremos de los cromosomas, en el centrómero, etc.

Como el ADN no codificante es el de mayor proporción en organismos eucariontes, existe mayor probabilidad de que las mutaciones “caigan” en esas zonas. Como las mutaciones que se producen en las regiones no codificantes no sufren una presión de selección tan importante como las mutaciones que se producen en los genes, se acumulan a lo largo de la evolución. Por eso, las regiones no codificantes aportan la mayor variabilidad a nivel del genoma.

El conocimiento de la estructura y composición del ADN de distintos organismos reveló también que los genomas eucariotas son ricos en secuencias repetidas, las cuales se encuentran dispersas en cantidad variable por todo el genoma, mayormente en las regiones no codificantes.

Además, una misma región de ADN puede tener diferentes secuencias en los individuos. Estas distintas secuencias se conocen como “variables alélicas” o alelos (uno proviene del padre y el otro de la madre). Cuando, dentro de una población, una región del ADN presenta sólo dos variantes se la denomina “dimórfica” y cuando presenta varias formas distintas se dice que es “polimórfica”. Para poder determinar si una región de ADN es polimórfica, se analiza su secuencia en varios individuos y si se encuentran muchas variantes, entonces se trata de un polimorfismo de ADN. Las regiones polimórficas aportan información importante para identificar individuos. Los polimorfismos más utilizados para la identificación de individuos son de dos tipos: i) las secuencias repetitivas y ii) las mutaciones puntuales.

#### Análisis de secuencias repetitivas para la identificación de individuos

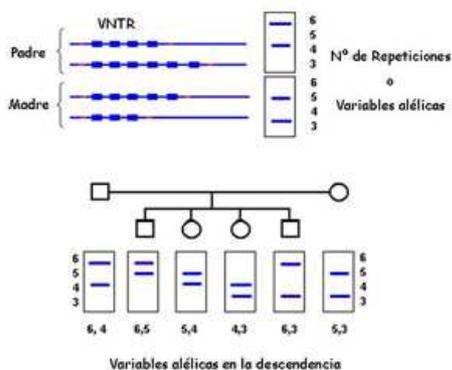
Se las denomina secuencias *repetitivas en tándem* en número variable (VNTR por las iniciales en inglés) o ADN satélite. El ADN satélite está constituido por secuencias cortas mayormente no codificantes que se repiten en tándem, es decir, de manera continua, un cierto número de veces, en una determinada zona del ADN. Estos fragmentos se clasifican acorde a la cantidad de pares de bases (pb) que forman la unidad de repetición como *satélites*, *minisatélites* y *microsatélites* (>100 pb, entre 10-100 pb y entre 2-6 pb, respectivamente). Cada uno tiene utilidad en distintos estudios, por ejemplo: los satélites sirven para diferenciar especies; los minisatélites son los elementos más polimórficos en el genoma humano, por lo cual se los utiliza en la identificación de personas; y los microsatélites son muy comunes en las especies vegetales, insectos y vertebrados. Para que puedan ser utilizadas en la identificación de individuos o especies se debe conocer previamente el tamaño de las unidades de repetición y su secuencia. Por eso, las técnicas de identificación basadas en ADN satélite requieren de un cierto conocimiento previo del genoma de la especie en estudio. En general, este tipo de ADN muestra una variabilidad excepcional entre individuos, particularmente en lo que respecta al número de repeticiones en cada lugar o locus, y esto es importante para la identificación.

#### De la teoría a la práctica: marcas y bandas en “códigos de barra”

Es posible localizar regiones del cromosoma que tienen ADN repetitivo con una cierta secuencia por medio de:

a) técnicas que estudian los cromosomas al microscopio: permiten observar diferencias en cuanto al sitio de localización de los fragmentos repetitivos. Se debe contar con una sonda marcada fluorescentemente y tener células en estado de mitosis para observar resultados. Se aplica preferentemente para diferenciar especies.

b) técnicas de biología molecular: se utiliza mayormente la PCR para amplificar específicamente la región repetitiva (ver El Cuaderno 67). Como muestra el siguiente esquema, los individuos de una familia se pueden diferenciar por el número de repeticiones de un fragmento de ADN presente en un lugar específico de un cromosoma.



El esquema muestra un par de cromosomas paternos, y el mismo par de cromosomas maternos, en los cuales un fragmento de ADN satélite se repite. Si el padre tiene una secuencia de 20 pares de bases repetida 4 veces en el cromosoma 1, y 6 veces en el cromosoma 1' (el cromosoma homólogo), la PCR dará como producto un fragmento de 80 pb y otro de 120 pb para ese individuo. En la madre el mismo fragmento se repite 5 veces en un cromosoma y 3 veces en su homólogo. Los hijos presentan en ese par de cromosomas homólogos una combinación de alelos de los padres para ese fragmento de ADN repetitivo. (Nota: en el Padre y la Madre las líneas representan cromosomas homólogos y NO una doble hebra de ADN.)

#### Importancia del análisis de ADN Satélite para la biotecnología

La localización de sectores de ADN repetitivo permite establecer "marcas" en la molécula de ADN y armar una especie de "mapa" de ese cromosoma. Por ello, las técnicas que utilizan ADN satélites se incluyen dentro de las técnicas de "marcadores moleculares". Los marcadores moleculares basados en ADN satélites son muy utilizados en los proyectos genoma para construir un mapa de referencia en el cual ir localizando las secuencias parciales del genoma que se van obteniendo. También son de mucha utilidad cuando se quiere localizar y aislar un gen dentro de un cromosoma.

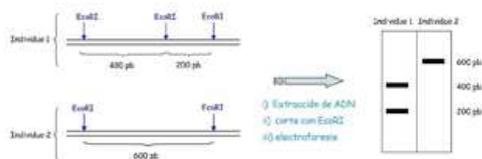
El desarrollo de un "mapa genético" por medio de marcadores es también de gran interés en los programas de mejoramiento de especies por técnicas convencionales de cruzamientos. Al contar con estos marcadores es posible analizar la composición genotípica de los individuos y diferenciar y seleccionar los descendientes deseados sin tener que esperar a que crezcan para detectar diferencias, acelerando así los tiempos de los programas de mejoramiento. Esta aplicación biotecnológica se conoce como "Mejoramiento Asistido por Marcadores" (o MAS, por sus iniciales en inglés *Marker Assisted Selection*). Estos marcadores también permiten garantizar la identidad y calidad de las semillas y de los animales de interés, ofreciendo así una garantía extra al productor agropecuario al momento de realizar una compra legal.

Otra aplicación de estas técnicas es el estudio de la biodiversidad: la aplicación de marcadores moleculares sobre individuos de una misma población y/o especie permite analizar cuán distintos son genotípicamente esos individuos (aún cuando no se detecten diferencias fenotípicas), estimando así la riqueza y variabilidad genética de las poblaciones y especies.

#### Análisis de mutaciones puntuales para la identificación de individuos

Entre las diferencias en la secuencia del ADN de distintos individuos están las mutaciones puntuales, es decir, el cambio de un nucleótido por otro. Esta mutación puede no traer ninguna consecuencia biológica, pero sí puede detectarse al aplicar alguna técnica de laboratorio, como el corte del ADN con enzimas de restricción (ver El Cuaderno 34) o PCR (ver El Cuaderno 67). En lo que respecta a las enzimas de restricción, una mutación puede provocar que desaparezca (o se genere) un sitio de restricción en comparación con otro individuo que no tiene esa

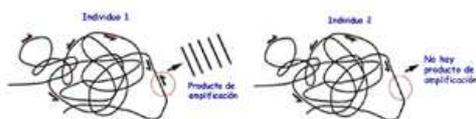
mutación. Ello hará que se generen fragmentos de distinta longitud cuando se trate al ADN con la enzima en cuestión, como se indica en la figura. Este es el principio de la técnica conocida como “Polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción” o RFLP (por las iniciales en inglés *Restriction Fragment Length Polymorphisms*)



[Ampliar imagen](#)

Esquema que representa la técnica de RFLP. Debido a una mutación en un sector particular del ADN, la misma enzima de restricción (*EcoRI*) genera fragmentos de diferente tamaño en dos individuos. (Nota: en el Individuo 1 y II las líneas representan la doble hebra de ADN.)

También es posible identificar individuos a partir de mutaciones puntuales mediante la amplificación aleatoria por PCR (“Polimorfismos de ADN por Amplificación Aleatoria” o RAPD por las siglas en inglés *Random Amplification of Polymorphic DNA*). Las mutaciones puntuales en los genomas de los distintos individuos harán que un cierto fragmento de amplificación se pueda generar o no, lo cual se verá reflejado en el posterior “patrón de bandas” de la electroforesis en gel, como se representa en el siguiente esquema:



[Ampliar imagen](#)

Esquema que representa la amplificación aleatoria por PCR. El individuo 1 y el 2 difieren en secuencia en la región marcada con círculo rojo, debido a una mutación puntual, y esta diferencia en el ADN provoca que no se obtenga producto de PCR sobre esa región del ADN para el individuo 2. En un gel de agarosa se verá esa banda en el individuo 1, pero no se verá en individuo 2.

#### Importancia biotecnológica de las técnicas basadas en mutaciones puntuales

Estas técnicas permiten una primera aproximación al estudio molecular de especies sobre las cuales no se cuenta con conocimientos previos. Están siendo aplicadas para caracterizar los germoplasmas de muchas especies, para poder analizar la riqueza genética de las mismas y se aplican tanto en animales, vegetales, y hongos. También se utilizan en programas de mejoramiento genético y como marcadores moleculares para el clonado de genes.

#### Ventajas de las técnicas basadas en ADN para caracterizar e identificar individuos

- Cuando se aplican las técnicas descritas utilizando varios marcadores a la vez, es posible identificar a un individuo de entre billones de otros individuos, mucho más que por los caracteres morfológicos-fenotípicos.
- Las técnicas basadas en ADN pueden ser acopladas a PCR y permiten trabajar con muy poca cantidad de muestra inicial, ya que poseen alta sensibilidad.
- Los métodos basados en ADN pueden realizarse sobre prácticamente cualquier tipo de muestra biológica, mientras que los basados en grupo sanguíneo o las huellas dactilares sólo pueden realizarse con sangre o huellas que hayan quedado impresas en algún sitio.
- La molécula de ADN es mucho más estable en el tiempo que las proteínas, y esto permite utilizar muestras que han estado sometidas a fuertes cambios (de pH, temperatura, solventes, etc).

ADN: 50 años no es nada

Como es posible apreciar, el conocimiento de la estructura del ADN hace apenas unas cinco décadas ha permitido abrir más puertas que las seguramente imaginadas por los mismos descubridores, Watson y Crick. Lo dichoso para estos dos científicos es que ha sido tan precipitadamente, que lo han podido ver en vida. La primera publicación científica sobre el uso de marcadores moleculares de ADN para la identificación de individuos fue hecha por Sir Alec Jeffreys de Inglaterra en 1985. En el mismo año, a raíz de la divulgación de este tema, un primer caso judicial fue resuelto utilizando "Huellas Genéticas". A partir de allí, el ADN empezó a ser estrella en muchos casos judiciales, pero también abrió las puertas para debates éticos, como la discriminación basada en las "huellas genéticas". ¿Quién hubiera imaginado que las técnicas basadas en ADN permitirían identificar a un individuo antes de que el cigoto realice la primera mitosis? ¿O que algún día permitiría afirmar que el hombre de Neandertal no es antecesor del hombre actual? ¿O que el caballo por el que se han pagado millones de dólares no es el original, a pesar de ser idéntico por fuera? Cuántas cuestiones más se seguirán resolviendo utilizando las técnicas de marcadores moleculares, es sólo cuestión de formular correctamente la pregunta para que esta molécula sirva de evidencia.

[← Ver cuaderno anterior](#)

[Ver cuaderno siguiente →](#)

Bajar el cuaderno a su computadora. [→](#)

Recomendar a un amigo. [→](#)

[← Volver al listado.](#)