

BIOTECNOLOGIA

AMPLIFICACIÓN POR REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) DE SECUENCIAS GENÉTICAS ASOCIADAS AL SEXO MOLECULAR EN CUATRO ESPECIES DE MAMÍFEROS DOMÉSTICOS. *Rodríguez A. Universidad Nacional de Colombia, sede MEDELLÍN, SENA Antioquia, Colombia.*

Teniendo como objetivo determinar el sexo molecular en células somáticas mediante la técnica de PCR en cuatro especies de mamíferos de importancia zootécnica en Colombia: Bos (Sub-especies indicus y taurus), Equus caballus, Sus scrofa y Bubalus Bubalis, se diseñaron cebadores homólogos a las secuencias conservadas de los genes ZFX/ZFY y SRY, se evaluaron con el software apropiado, luego se extrajo DNA a partir de sangre periférica por el método fenolcloroformo y se utilizó al oocito como célula modelo para determinar el número mínimo de células requeridas para obtener amplificado. Se usó la reacción en cadena de la polimerasa para amplificación de la secuencia conservada correspondiente al gen SRY con el propósito de establecer un método molecular para determinar el sexo genético en esas cuatro especies. Los resultados obtenidos mostraron la amplificación del gen SRY en la cuatro especies evaluadas, lo cual se constituye en un valioso aporte para el proceso de sexaje preimplantatorio en estas especies. Además se determinó que un solo oocito es suficiente para obtener amplificado. De otro lado, los cebadores diseñados para la amplificación de los genes ZFX y ZFY demostraron ser un excelente control interno.

USO DE MARCADORES MICROSATELITES (STRs) PARA IDENTIFICACIÓN GENÉTICA DE EQUINOS EN COLOMBIA. *Rodas, A.G. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira*

Los Microsatélites o STRs han sido usados por su alto grado de polimorfismo, para determinar parentesco, analizar estructuras poblacionales y determinar posibles relaciones genéticas entre grupos. Las pruebas de paternidad con marcadores microsatélites en Colombia son realizadas para humanos; en equinos estas no han sido implementadas, quizás por el alto costo y la falta de una metodología estandarizada. Sin embargo, las pruebas de identidad genética son un requisito en el país, para la inscripción de ejemplares con el fin de certificar la identidad (huella dactilar o fingerprinting) y realizar pruebas de paternidad. Esta prueba es realizada por la Universidad de Davis CA, con 15 Microsatélites. Con el fin de implementar la prueba de genotipificación de equinos que constituya un medio de seguridad e investigación básica y aplicada, de este valioso recurso genético existente, se utilizó un Kit comercial para amplificar por PCR 12 sistemas STRs de muestras de ADN de equinos obtenidas a partir de sangre y mediante Salting out. Las condiciones de análisis del producto amplificado fueron estandarizadas para el secuenciador genético ABI PRISM 3100 (PE). Los resultados obtenidos del análisis del producto amplificado fueron estandarizados según el alelo de referencia "M" reportado por la Sociedad Internacional de Genética Animal (ISAG, 1996) y posteriormente comparados con los resultados obtenidos por la Universidad de Davis, CA para los mismos individuos genotipificados en el presente trabajo. El coeficiente de determinación con respecto a la Universidad de Davis fue 3 0.9988, para los sistemas STRs analizados; esto permite demostrar que la prueba de genotipificación puede ser implementada en Colombia con el uso de STRs y el secuenciador genético ABI PRISM 3100 (PE).

RELACION ENTRE DAÑO MITOCONDRIAL Y PRODUCCIÓN DE H₂O₂ EN EMBRIONES BOVINOS PRODUCIDOS IN VITRO CON ALTO Y BAJO POTENCIAL DE DESARROLLO. *Serrano-Novoa C. A., Olivera-Angel M., Velez-Pardo C., Jimenez-Del Rio M. Fisiología y Biotecnología de la Reproducción BIOGENESIS - NEUROCIENCIAS. Universidad de Antioquia*

Los embriones producidos in vitro (EPIV) presentan bloqueo en el desarrollo al momento de la activación del genoma (8-16 células en el bovino), limitando la producción de blastocitos (35%). Este fenómeno ha sido relacionado con la producción de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO's). Como fuentes de ERO's se han descrito altas tensiones de oxígeno, exposición a la luz, alteración del metabolismo oxidativo. Se ha determinado que los EPIV con baja competencia para superar el bloqueo, presentan fallas en funcionalidad mitocondrial y nucleolar, exhibiendo un retardo en su tasa de clivaje durante los primeros ciclos. Algunos autores han relacionado el tiempo al primer clivaje con la cantidad relativa de ciertas proteínas, como el Glutatión, un limpiador de ERO's, sugiriendo que los embriones incompetentes presentan fallas a nivel transcripcional que les impide defenderse contra los ERO's producidos en cultivo antes de la activación del genoma embrionario, mostrando niveles elevados de estas especies (H₂O₂) y siendo más susceptibles al daño a nivel celular relacionado con ellos. No contamos con un estudio de cinética de producción de ERO's, en EPIV bovinos con alta (clivaje <32 hpi) y baja (clivaje >32 hpi) competencia durante el desarrollo temprano, ni se ha logrado esclarecer el papel de la mitocondria en la generación de ERO's; es decir, si la mitocondria es la fuente o el blanco de ERO's. Los objetivos de este estudio son determinar la cinética de producción de H₂O₂ y la relación de éstos con procesos de daño mitocondrial y mortalidad embrionaria mediante mediciones de fluorescencia luego de incubación con 2'7' Diclorodihidrofluoresceína Diacetato (niveles de H₂O₂), DiOC6 (daño mitocondrial) y naranja de acridina/bromuro de etidio (mortalidad embrionaria) en embriones con alta y baja competencia para el desarrollo.