

PCR MÚLTIPLO – SSCP – HA: UNA EFICIENTE METODOLOGÍA PARA LA DETECCIÓN DE ALTERACIONES DE SECUENCIA EN EL GEN BRCA1

RAMÍREZ-GÓMEZ, F., RODRÍGUEZ, J., BARRETO, G.
Laboratorio de Genética Molecular Humana, Sección de Genética,
Departamento de Biología, Universidad del Valle – Meléndez.
barretog@mafalda.univalle.edu.co

El barrido mutacional de genes de tamaño apreciable tiene limitaciones importantes en términos económicos y de tiempo sobre todo cuando se trata de estudiar un número grande de individuos. Estos problemas se acentúan cuando se considera que las técnicas de detección de mutaciones de ejecución más simple (SSCP y HA) son sensibles solo cuando se trabaja con pequeños fragmentos de DNA (200 pb – 400 pb). Con el objetivo de viabilizar la detección de alteraciones de secuencia en el gen BRCA1 (5592 nucleótidos y 22 exones) en una población de pacientes con cáncer de mama se implementó inicialmente la técnica de PCR-múltiplo haciendo las adaptaciones correspondientes de temperatura de hibridación, tiempos de extensión y concentraciones de dNTP's, Taq DNA polimerasa y DNA. A partir de los productos de cada PCR-múltiplo se adaptaron las metodologías de SSCP y HA para cada conjunto de mínimo 3 amplicones. La sensibilidad de esta metodología se corroboró mediante la utilización de controles positivos (homocigotos para la DF508 y diferentes mutaciones en el gen BRCA1) y negativos (carentes de mutación). Esta metodología ha sido aplicada a la detección de alteraciones de secuencia en los exones 2, 5, 11d y 20 del gen BRCA1, en pacientes con cáncer de mama familiar. La importancia de este trabajo radica fundamentalmente en la implementación de una metodología eficiente para la amplificación simultánea de varios exones y su aplicación combinada con SSCP y HA para la detección de mutaciones en el gen BRCA1 en una muestra poblacional del suroccidente colombiano.

ESTRUCTURA GENÉTICA E HISTORIA DEMOGRÁFICA DEL JAGUAR (*Panthera onca*) EN COLOMBIA: CONTRASTE ENTRE MARCADORES MOLECULARES Y DATOS CRANEOMÉTRICOS

RUÍZ-GARCÍA, M., PAYÁN-ESTEBAN, C.
Genética de Poblaciones, Biología Evolutiva, Departamento de
Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana.
mruiz@javeriana.edu.co

Se estudio la estructura genética de los jaguares en Colombia (n=49), e igualmente, se compararon los resultados moleculares obtenidos con otros 16 jaguares procedentes de Guatemala, Perú, Bolivia y zona central de la Amazonía brasileña. Para ello se emplearon 18 marcadores microsatélites (STRPs) diseñados para gato doméstico. Estos marcadores fueron Fca 01, 08, 24, 43, 45, 70, 94, 96, 126, 136, 176, 200, 225, 251, 290, 294, 391 y 506, localizados en los diferentes cromosomas felinos. Mediante tests exactos utilizando cadenas de Markov y el método de Fisher se determinó un fuerte exceso de homocigotos en todos los niveles jerárquicos analizados, lo cual pone en evidencia la posible importancia del efecto Wahlund en esta especie y la no existencia de correspondencia con las subespecies morfológicamente propuestas en el

pasado. Se calculó también el asignamiento poblacional de los jaguares analizados, a las dos subespecies de jaguares presentes en Colombia mediante el método de verosimilitud y con el método basado en distancias con los procedimientos "as is" y "leave one out". Los valores de correcta asignación según los métodos oscilaron entre 64 y 100%. Los estadísticos F jerarquizados siguiendo a Michalakis & Excoffier (1996) mostraron elevados y positivos valores de FIS y FIT y valores significativos pero relativamente pequeños de FST. Las estimas de flujo génico oscilaron entre 3.09-12.13 para los métodos dependientes de FST y de 1.075 para el método de los alelos privados, los cuales pueden considerarse como elevados. Las estimas de números efectivos y totales a partir de las heterocigocidades, que fueron muy elevadas ($H=0.827-0.845$), usando IAM y SMM y a partir de simulaciones de coalescencia con el método de Griffiths & Tavaré (1994) ofrecieron, respectivamente, entre 12.195 a 27.315 jaguares y entre 26.612 a 39.017 jaguares en Colombia. No existieron evidencias de cuellos de botella, ni de expansiones poblacionales, al utilizar los métodos de Cornuet & Luikart (1996) y Garza & Williamson (2001), o los métodos de Reich & Goldstein (1998) (test de kurtosis intra locus k y test interlocus g). Mientras que los marcadores moleculares empleados llegan a distinguir dos animales en un número potencial de 4.22×10^{14} jaguares, un estudio craneométrico paralelo con 46 variables morfométricas no consiguió diferenciar los animales de origen *P. o. centralis* de los pertenecientes a *P. o. onca*.

ESTRUCTURA GENÉTICA Y SIMULACIONES DE MÁXIMA VEROSIMILITUD Y ESTADÍSTICA BAYESIANA APLICADA A LA CONSERVACIÓN GENÉTICA DEL OSO ANDINO (*Tremarctos ornatus*) EN VENEZUELA, COLOMBIA, ECUADOR Y BOLIVIA

RUIZ-GARCÍA, M.¹, OROZCO-TERWENGEL, P.¹, CASTELLANOS, A.², ARIAS, L.²

¹ Genética de Poblaciones, Biología Evolutiva, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana.

² Fundación Sobreviven, Quito, Ecuador. mruiz@javeriana.edu.co

Se analizaron 115 muestras de oso andino procedentes de Venezuela, Colombia, Ecuador y Bolivia mediante 5 microsátelites (G1A, G1D, G10B, G10C, G10M, G10P, G10X, UarMu 50, UarMu, 59). Se detectó: (1) No existencia de equilibrio Hardy-Weinberg en ninguna de las poblaciones analizadas en cada uno de los países, lo que evidencia la existencia de efecto Wahlund. (2) Los niveles de variabilidad genética fueron bajos ($H=0.40$, población total). Alarmantemente bajo fue el nivel de heterocigocidad en la población de Ecuador ($H=0.27$). (3) Los niveles de flujo génico resultaron bajísimos ($Nm=0.2-0.3$). (4) Los números efectivos calculados a partir de los métodos de máxima verosimilitud de Griffiths & Tavaré (1994), y de las heterocigocidades con los modelos IAM y SMM oscilaron de la siguiente forma: Población Total ($N_e=19.000-24.000$), Venezuela ($N_e=912-1129$), Colombia ($N_e=3.605-6.897$) y Ecuador ($N_e=778-2.778$). De forma paralela, se aplicó el modelo simulacional de O'Ryan *et al.*, (1998), lo que permitió tener estimas más precisas que las anteriores. La aplicación de los modelos bayesianos de Pritchard *et al.*, (2000) permitió distinguir cuantos acervos genéticos diferentes se encontraron en el interior de cada uno de los países. (5) Se analizó la posible existencia de estructura espacial mediante el método kinship, el método de aislamiento por distancia de Slatkin (1993) y autocorrelación espacial uni y bidimensional. En todos los casos se observó una fuerte disposición al aislamiento por distancia. Se obtuvieron algunas clinas significativas