

**EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ADN GÉNOMICO DE *Aedes aegypti* (L.) (DIPTERA: CULICIDAE)**

Rafael Pérez-Muñoz<sup>1</sup>, Verónica Ávila-Rodríguez<sup>1</sup>, Eliel Rocha-Galvan<sup>1</sup>, Urbano Nava-Camberos<sup>2</sup> Cándido Márquez-Hernández<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Facultad en Ciencias Biológicas, Universidad Juárez del Estado de Durango, Av. Universidad S/N, C.P. 35010 Gómez Palacio, Durango, <sup>2</sup>Facultad de Agricultura y Zootecnia, Universidad Juárez del Estado de Durango, Carretera Gómez Palacio-Tlahualilo Domicilio Conocido Venecia Durango, México. C.P. 35170. Email: biol.rafael@gmail.com.mx

---

---

**RESUMEN:** Se realizó una evaluación del método de CTAB y el Kit Axyprep Blood Genomic DNA Miniprep para la extracción de ADN de 22 mosquitos de la especie *Aedes aegypti* en la Ciudad de Gómez Palacio, Durango. Con el método de CTAB se lograron 11 pruebas positivas, intervalo de 55.5 a 919.6 ng/μL, obteniendo altas concentraciones de ADN en la mayoría de los resultados y un intervalo de absorbancia de 2.01 a 2.15 A260/A280, el cual es una calidad relativamente mala con respecto al kit Axyprep. Con el Kit Axyprep Blood Genomic DNA Miniprep se produjeron ocho pruebas positivas con poca concentración de ADN con intervalos de 4.3 a 38 ng/μL, y un rango de absorbancia de 1.2 a 1.05 A260/A280 el cual significa ADN de buena calidad. Se concluye que el método CTAB es el mejor procedimiento para la extracción de ADN del mosquito *Aedes aegypti*, mientras que con el kit Axyprep Blood Genomic DNA Miniprep se obtiene ADN de buena calidad.

Palabras clave: Extracción, *Aedes aegypti*, ADN, mosquito, CTAB.

**Evaluation of two methods of extraction genomic DNA of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culiciade)**

**ABSTRACT:** An evaluation of the method of CTAB and Blood Genomic DNA Kit Axyprep Miniprep DNA extraction for 22 mosquitoes of the species *Aedes aegypti* in the city of Gomez Palacio, Durango was performed. CTAB method with positive tests 11, interval 55.5 to 919.6 ng / uL, obtaining high concentrations of DNA in most of the results, and a range of 2.01 to 2.15 absorbance of A260/A280 was achieved, which is a quality relatively regarding bad Axyprep kit. With Blood Genomic DNA Kit Axyprep Miniprep eight positive tests occurred in low DNA concentration interval from 4.3 to 38 ng / uL, and an absorbance range of 1.2 to 1.05 A260/A280 which means good quality DNA. We conclude that the CTAB method is the best method for DNA extraction from mosquito *Aedes aegypti*, while the Blood Genomic DNA kit Axyprep Miniprep DNA of good quality is obtained.

Key words: Extraction, *Aedes aegypti*, DNA, mosquito, CTAB.

---

---

**Introducción**

De todas las especies de mosquitos conocidos con importancia en salud pública, *Aedes aegypti* (L.) es considerado uno de los más peligrosos por ser vector del mayor número de enfermedades arbovirales. Se cree que esta especie se introdujo al Continente Americano desde que se dieron las primeras incursiones colonizadoras, llegando a establecerse principalmente en los trópicos y subtrópicos, su distribución se limitaba por las latitudes 35° N y 35° S, se le ha encontrado en sitios más altos y fríos de los inicialmente reconocidos llegando hasta los 1800 metros sobre el nivel del mar (Monroy, 2006). Por sus hábitos se le considera doméstico ya que está estrechamente relacionado con el humano, se encuentra en áreas urbanas, suburbanas y ha colonizado sustancialmente el medio rural. (Thirión, 2002). Actualmente existen una gran cantidad de estudios moleculares para *Aedes aegypti*, ya sea para su identificación, observar mutaciones, detectar genes de resistencia, las herramientas moleculares han facilitado en gran medida los estudios de estas poblaciones; sin embargo, la eficiencia de los métodos de extracción de ADN genómico son fundamentales para la eficacia y precisión de esos estudios. El método CTAB, originalmente diseñado para obtener los ácidos nucleicos de vegetales, ha sido el más utilizado (Doyle y Doyle 1990). Mejorado para diferentes tipos de muestras por (Tel-Zur, 1999). Otros métodos de extracción de ADN, son los de columna, los cuales consisten en Kits para

extracción cuya finalidad es la eficiencia de tiempo así como la calidad del ADN extraído, entre ellos se utiliza el Kit Axyprep Blood Genomic DNA Miniprep de extracción de ADN. Este método se basa en la liberación eficiente de ADN genómico a partir de sangre total anticoagulada por lisis celular y un buffer de precipitación hemo/proteína (Tampón AP1), junto con la adsorción selectiva del ADN genómico en una columna especial AxyPrep. El ADN genómico purificado se diluye en un bajo contenido de sal tampón Tris que contiene EDTA 0,5 mM, lo que mejora la solubilidad de ADN y ayuda a proteger el ADN de alto peso molecular frente a la degradación de nucleasa. Este kit también puede utilizarse para extraer ADN de sangre seca, ADN, ARN viral y ADN mitocondrial. El ADN genómico se puede purificar mediante este procedimiento. (Axigen Biosciences®). Por lo anterior el presente trabajo tiene como objetivo evaluar dos métodos de extracción de ADN para especímenes del mosquito *Aedes aegypti*.

### Materiales y Método

Se colectaron 11 larvas del mosquito de la especie *Ae. aegypti* para cada método de extracción en colonia centro de la ciudad de Gómez Palacio, Durango la cual se encuentra localizada en las coordenadas 25°32'27"N y 103°40'30"O a 1140 msnm. Las extracciones se realizaron en el Laboratorio de Diagnóstico Molecular de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango. Para la extracción de ADN por Axy Prep Blood Genomic DNA Miniprep Kit Axigen Biosciences, se utilizó la metodología descrita en el kit con una excepción en el paso dos ya que es para cuando se extrae ADN en sangre no en tejido animal o vegetal .Se preparó un gel de Agarosa al .8% se visualizó en un fotodocumentador MultiDoc- It Digital Imaging System. Para ver los valores de absorbancia se utilizó un espectrofotómetro Nano Drop 2000. Para el método de extracción de ADN por CTAB (Tel- Zur, 1999). Para ver los valores de absorbancia se utilizó un espectrofotómetro Nano Drop 2000®.

### Resultados

**Extracción y Cuantificación de ADN por el método CTAB.** Se extrajo el ADN a 11 mosquitos *Ae. aegypti*, se observaron las 11 muestras positivas(Figura 1) . En las concentraciones de ADN por el método CTAB para *Ae. aegypti* se mostraron intervalos de 55.5 a 919.6 ng/μL, obteniendo una concentración muy alta de ADN en la mayoría de los resultados y un rango de absorbancia de 2.01 a 2.15  $A_{260}/A_{280}$  (Cuadro 1), esto nos indica que existe una cantidad de ADN buena; sin embargo, la calidad estuvo por arriba de los valores de 2 lo que nos indica menos pureza en la calidad delADN obtenido.

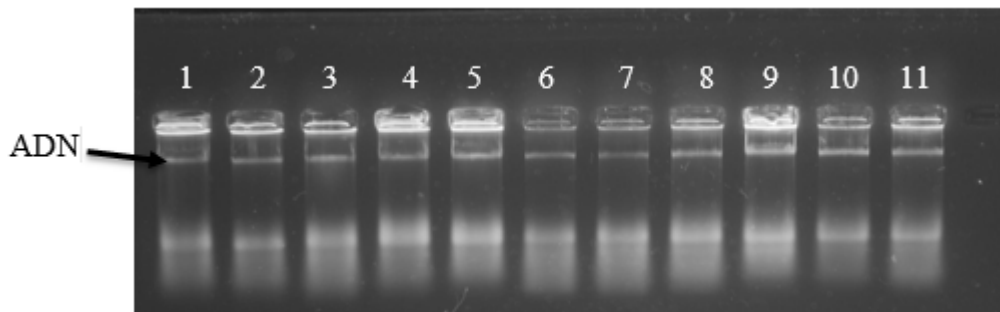


Figura 1. Productos de extracción de ADN de *Ae. aegypti*, por el método CTAB, en gels de agarosa 0.08%.

Cuadro 1. Valores de concentración de ADN en (ng/μL) y Absorbancia  $A_{260}/A_{280}$ , del mosquito *Ae. aegypti*, de muestras extraídas con el método CTAB.

Muestras	Especie	Concentración de ADN	Absorbancia
----------	---------	----------------------	-------------

		(ng/μL)	A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub>
1	<i>Aedes aegypti</i>	919.6	2.12
2	<i>Aedes aegypti</i>	204	2.13
3	<i>Aedes aegypti</i>	407.8	2.14
4	<i>Aedes aegypti</i>	665.2	2.11
5	<i>Aedes aegypti</i>	892.7	2.11
6	<i>Aedes aegypti</i>	75.2	2.15
7	<i>Aedes aegypti</i>	196.2	2.14
8	<i>Aedes aegypti</i>	162.2	2.14
9	<i>Aedes aegypti</i>	380.5	2.08
10	<i>Aedes aegypti</i>	55.5	2.01
11	<i>Aedes aegypti</i>	151.4	2.12

**Extracción y Cuantificación de ADN por el kit Axyprep Blood Genomic DNA Miniprep®.**

Se extrajo el ADN a 11 mosquitos *Ae. aegypti*, se observaron ocho muestras con bandas muy tenues poco visibles; sin embargo las concentraciones de ADN mediante el kit Axyprep Blood Genomic DNA Miniprep, se obtuvieron rangos de 4.3 a 38 ng/μL, obteniendo una concentración muy baja de ADN en la mayoría de los resultados. Las muestras resultantes de los dos métodos fueron resuspendidas en 30 μL de TE; en cuanto a los niveles de absorbancia se observó un rango de 1.2 a 1.05 A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub>; (Cuadro 2), lo cual estos valores nos indican que hay ADN positivo y de mejor calidad que las muestras extraídas mediante el método CTAB.

**Conclusiones**

Las concentraciones de ADN por el método CTAB fueron de 55.5 a 919.6 ng/μL, obteniendo una concentración muy alta; los niveles de absorbancia variaron de 2.01 a 2.15 A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub>; esto nos indica que existe una cantidad d ADN buena sin embargo la calidad, relativamente con menos pureza.

Con las extracciones mediante el kit Axyprep Blood Genomic DNA Miniprep, se obtuvieron valores de 4.3 a 38 ng/μL, obteniendo una concentración muy baja de ADN, los valores de absorbancia fueron de 1.2 a 1.05 A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub>, estos valores muestras que hay ADN positivo en baja cantidad, pero de mejor calidad en cuanto a impurezas que las extraídas mediante el método CTAB.

Cuadro 2. Valores de concentración de ADN en (ng/μL) y Absorbancia A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub>, del mosquito *Ae. aegypti*.

Muestras	Especie	Concentración de ADN (ng/μL)	Absorbancia A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub>
1	<i>Aedes aegypti</i>	6.4	1.76
2	<i>Aedes aegypti</i>	7.6	1.69
3	<i>Aedes aegypti</i>	8.4	1.92
4	<i>Aedes aegypti</i>	5.1	1.71
5	<i>Aedes aegypti</i>	9.4	1.65
6	<i>Aedes aegypti</i>	6.8	2.3
7	<i>Aedes aegypti</i>	6.2	1.2
8	<i>Aedes aegypti</i>	38	1.51
9	<i>Aedes aegypti</i>	11.4	1.96
10	<i>Aedes aegypti</i>	5.5	1.84
11	<i>Aedes aegypti</i>	4.3	2.05

**Literatura Citada**

- Axigen Biosciences 2014. Axyprep Blood Genomic DNA Miniprep Kit. [www.axxygenbio.com](http://www.axxygenbio.com).
- Doyle J. J; and J. L. Doyle 1990. A rapid total DNA isolation preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus* 12:13- 15.
- Monroy V. O. 2006. Vigilancia epidemiológica del dengue en México. Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades (CENAVECE), Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud, Secretaría de Salud, México.
- Tel- Zur. 1999. Modified CTAB procedure for DNA isolation from epiphytic cacti of the genera *Hylocereus* and *Selenicereus* (Cactaceae). *Plant Molecular Biology Reporter* 17: 24- 254.
- Thirión J. I. 2002. *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) como transmisor del dengue en México. Tesis UNAM Facultad de Ciencias: 134.