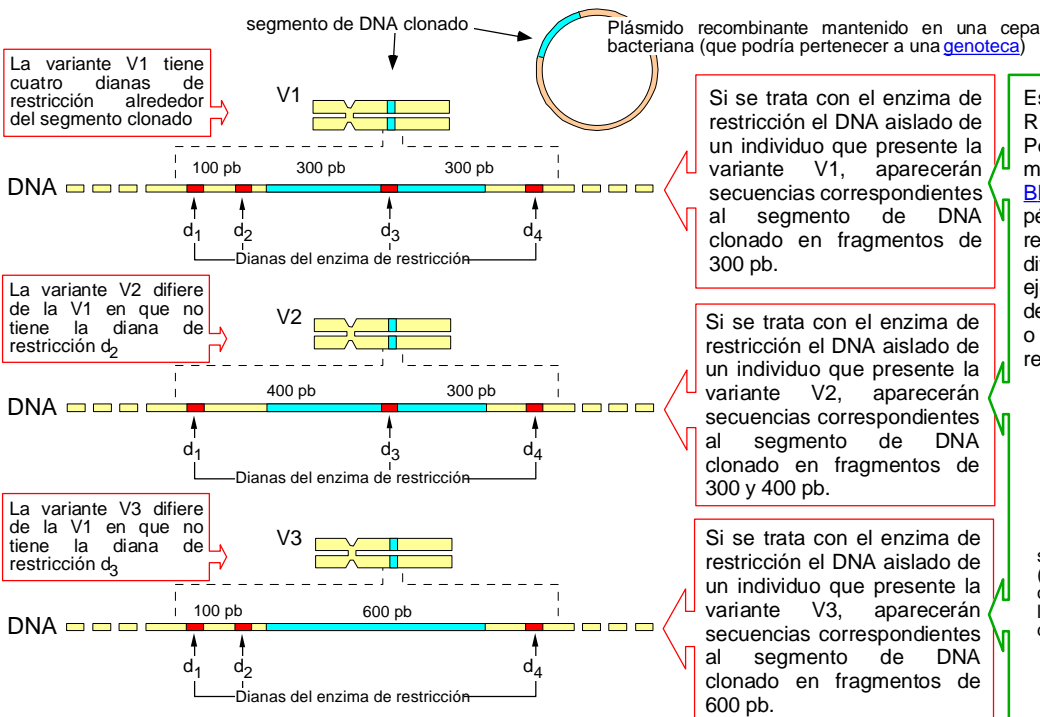
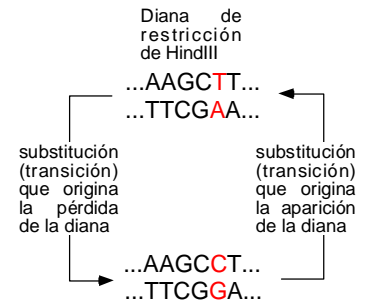


Polimorfismos para la longitud de fragmentos de restricción o RFLPs

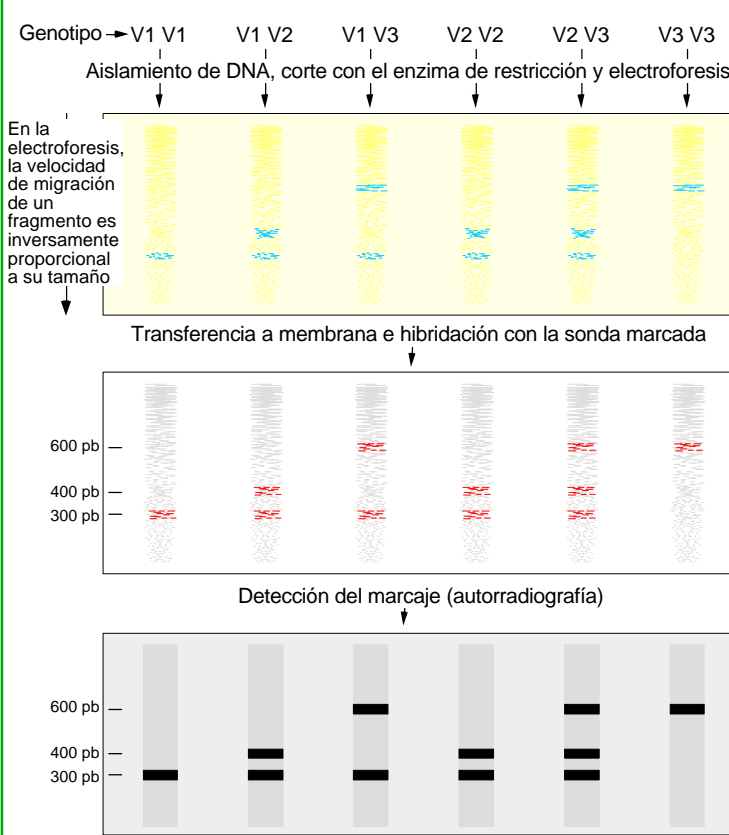
Un segmento de DNA de secuencia única, obtenido a partir de un eucariota y **clonado** (por ejemplo en un plásmido), formará parte de uno de los cromosomas de ese eucariota. En los siguientes esquemas se representa el cromosoma del eucariota (en color amarillo) y el segmento clonado (en color azul). Imaginemos tres variantes de ese cromosoma (V1, V2 y V3) en lo que respecta a la existencia de una serie de dianas para un **enzima de restricción** (d_1, d_2, d_3 y d_4) situadas alrededor del segmento en cuestión, o dentro del propio segmento. Se indican los números de pares de bases (pb) entre dianas consecutivas.



Este tipo de variantes se denominan RFLPs (Restriction Fragment length Polymorphisms), y pueden detectarse mediante la técnica "**Southern Blotting**". El polimorfismo se debe a la pérdida o aparición de dianas de restricción y puede producirse por diferentes tipos de mutaciones. Por ejemplo, una sustitución de un par de bases puede dar lugar a la pérdida o adquisición de la diana de restricción del enzima HindIII:



Detección del polimorfismo



En el esquema que aparece en este recuadro se indica el resultado que se obtendría tras la aplicación de la **técnica Southern Blotting** a los seis genotipos posibles (diploides) que resultan de la combinación de las variantes (alelos) V1, V2 y V3, indicadas arriba.

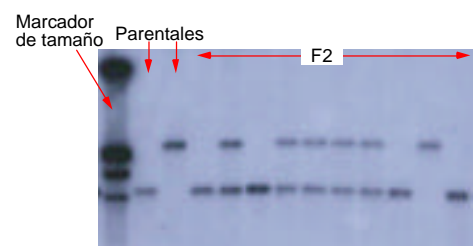
La secuencia de DNA correspondiente al segmento de DNA clonado estará presente en fragmentos de 300 pb, 400 pb o 600 pb (dependiendo del genotipo) que se separaron en función de su tamaño mediante la electroforesis

Obtención de la sonda marcada (se dan **más detalles** en otro capítulo)



La sonda marcada hibrida con las secuencias complementarias presentes en los fragmentos de 300 pb, 400 pb o 600 pb, de los distintos genotipos.

En este ejemplo, en la F2 del cruzamiento V1V1 x V2V2 se obtendría una segregación correspondiente a un gen dominante (los genotipos V2V2 y V1V2 no son distinguibles), mientras que en las F2 de los cruzamientos V1V1 x V3V3, o V2V2 x V3V3 la segregación sería de tipo codominante (los heterocigotos pueden distinguirse de los homocigotos).



RFLP (codominante) en alubia (*Phaseolus vulgaris* L.)

Actualmente, se conoce un gran número de enzimas de restricción, cada una de ellas rompe el DNA en una diana (secuencia) específica. Utilizando una u otra de tales enzimas puede detectarse polimorfismo prácticamente para cualquier segmento de DNA disponible (clonado u obtenido mediante **PCR**). Los RFLPs son **marcadores moleculares** que tienen múltiples aplicaciones como la **identificación de heterocigotos portadores de alelos recesivos**, la **asignación de paternidad**, la **identificación varietal**, o la elaboración de **mapas genéticos**. En la figura de la derecha se muestra el resultado del análisis de un RFLP en la F2 de un cruzamiento entre dos líneas de alubia que difieren en el tamaño del fragmento que contiene la sonda.