



*“2025, Año de la Mujer Indígena”*

### COMENTARIOS

Con fundamento en el numeral 6.3.3.1 de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SSA1-2020, se publica el presente proyecto a efecto de que los interesados, a partir del 1º de noviembre y hasta el 31 de diciembre de 2025, lo analicen, evalúen y envíen sus observaciones o comentarios en idioma español y con el sustento técnico suficiente ante la CPFEUM, sito en Río Rhin número 57, colonia Cuauhtémoc, código postal 06500, Ciudad de México.

Correo electrónico: [consultas@farmacopea.org.mx](mailto:consultas@farmacopea.org.mx).

#### DATOS DEL PROMOVENTE

Nombre: \_\_\_\_\_

Institución o empresa: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_

Cargo: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Correo electrónico: \_\_\_\_\_

#### MONOGRAFÍA NUEVA

Dice	Debe decir	Justificación*
MGA-FH 0270 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA PARA MARCADORES MOLECULARES VEGETALES		
La amplificación de marcadores moleculares de origen vegetal se fundamenta en la duplicación controlada de una secuencia específica de ácido desoxirribonucleico (ADN), mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).		
El presente apartado establece los criterios y requisitos mínimos para la preparación de la muestra, la amplificación <i>in vitro</i> de los marcadores moleculares y la detección de los amplicones o productos de PCR generados.		
Mediante la técnica PCR es posible obtener secuencias definidas de ADN, denominadas marcadores moleculares, a partir del uso de cebadores de oligonucleótidos, los cuales permiten		



*"2025, Año de la Mujer Indígena"*

Dice	Debe decir	Justificación*
amplificar regiones génicas o espaciadores intergénicos localizados en el núcleo, cloroplasto o mitocondria de las células vegetales.		
La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un procedimiento <i>in vitro</i> que posibilita la amplificación específica de fragmentos de ADN empleando cebadores de oligonucleótidos diseñados para reconocer genes o secuencias de interés presentes en el material genético nuclear o cloroplástico de las plantas, los cuales sirven como marcadores moleculares.		
El proceso inicia con la desnaturización del ADN bicatenario, que se separa en cadenas individuales. Posteriormente, dos cebadores sintéticos de polaridad opuesta se hibridan con sus secuencias complementarias en la región diana del ADN. Estas zonas de hibridación delimitan el fragmento a amplificar y actúan como puntos de inicio para la síntesis de ADN <i>in vitro</i> , catalizada por una ADN polimerasa termoestable.		
La amplificación se lleva a cabo mediante ciclos repetitivos que comprenden las siguientes etapas: <ul style="list-style-type: none"><li>• Desnaturalización: separación del ADN diana en cadenas simples.</li><li>• Hibridación: unión específica de los cebadores a sus secuencias complementarias bajo condiciones controladas.</li><li>• Extensión: síntesis de nuevas cadenas de ADN por acción de la polimerasa a temperatura óptima.</li></ul>		



*“2025, Año de la Mujer Indígena”*

Dice	Debe decir	Justificación*
La repetición sucesiva de estos ciclos produce una amplificación exponencial del segmento de ADN comprendido entre los cebadores. El producto específico, denominado amplicón, puede visualizarse mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 %.		
<b>MUESTRAS DE ADN VEGETAL</b>		
Debido a la alta sensibilidad de la PCR, las muestras de ADN de cada especie vegetal a analizar deben protegerse de la contaminación externa y corroborarse los resultados a través de la amplificación de controles tanto positivo como negativo. El muestreo, extracción, almacenamiento y transporte del ADN de interés debe realizarse bajo condiciones que minimicen la degradación de la secuencia diana.		
<b>MÉTODO</b>		
<b>Contaminación.</b>		
La prevención de la contaminación es un aspecto crítico en la aplicación de técnicas de amplificación molecular. Para garantizar la fiabilidad de los resultados, se requiere mantener una separación estricta de las áreas de trabajo, de acuerdo con el tipo de material y las actividades desarrolladas.		
Los factores a considerar incluyen el movimiento del personal, la indumentaria de trabajo, el flujo de materiales y equipos, el suministro de aire y los procedimientos de limpieza y descontaminación.		



*"2025, Año de la Mujer Indígena"*

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>El flujo de trabajo deberá organizarse en secciones funcionales diferenciadas, conforme a lo siguiente:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Área de preparación de mezcla muestra: destinada exclusivamente al manejo y almacenamiento de materiales sin ADN blanco, tales como cebadores, soluciones tampón y demás reactivos.</li><li>• Área pre-PCR: espacio en el que se manipulan los reactivos, las muestras de ADN y los controles.</li><li>• Área de amplificación (PCR): zona destinada a la reacción de amplificación, en la cual el material se maneja dentro de un sistema cerrado.</li><li>• Área de detección post-PCR: área donde el producto amplificado se manipula en un sistema abierto, para su análisis o visualización.</li></ul>		
<p>Si bien no siempre es indispensable una separación física estricta de las áreas, se deberán implementar medidas que aseguren la integridad del proceso, tales como:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• el almacenamiento independiente de los reactivos según su uso,</li><li>• la asignación de instrumental exclusivo para cada etapa (extracción, amplificación y detección), y</li><li>• la limpieza y desinfección completa de las superficies de trabajo al término de cada procedimiento.</li></ul>		



*"2025, Año de la Mujer Indígena"*

Dice	Debe decir	Justificación*
<b>Preparación de la muestra de ADN vegetal.</b>  Como se menciona en el MGA-FH 0260, existen diversos procedimientos de extracción de ADN vegetal que se pueden emplear. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que los aditivos presentes en el protocolo de extracción, así como ciertos metabolitos secundarios propios de las distintas especies vegetales, pueden interferir con la PCR, incluso, pueden no registrarse valores espectrofotométricos de pureza y contaminación aceptables, y obtenerse amplicones.  Por lo que el uso de controles positivos y negativos en cada proceso de amplificación de marcadores moleculares vegetales debe ser obligatorio.		
<b>Amplificación</b>  La amplificación por PCR de la secuencia diana se realiza en condiciones cíclicas definidas para cada uno de los marcadores moleculares (el perfil de temperatura para la desnaturación del ADN bicatenario, la hibridación y extensión de los cebadores; los tiempos de incubación a las temperaturas seleccionadas; las velocidades de calentamiento y/o enfriamiento).		
Estos dependen de varios parámetros tales como: <ul style="list-style-type: none"><li>• La longitud y la composición de bases de los cebadores y las secuencias diana;</li><li>• El tipo de ADN polimerasa, la composición de la solución amortiguadora y el volumen</li></ul>		



*"2025, Año de la Mujer Indígena"*

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>de reacción empleados para la amplificación;</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• El tipo de termociclador utilizado y la tasa de conductividad térmica entre el aparato, el tubo de reacción y el fluido de reacción.</li></ul>		
<p>En el caso de los códigos de barras de ADN para material vegetal los marcadores moleculares recomendados son, del cloroplasto, <i>matK</i>, <i>rbcL</i>, <i>trnH-psbA</i>, <i>rpl32-trnL</i> y el espaciador ribosomal ITS2. Las condiciones específicas de amplificación de cada uno de ellos se describen en el MGA-FH 0260.</p>		
<b>Detección</b>		
<p>Los amplicones generados por PCR detectarse y caracterizarse por tamaño mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% como se indica en el MGA-FH 0260.</p>		
<b>EVALUACIÓN E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS</b>		
<p>El resultado de la prueba de PCR es válido sólo si los controles positivos son inequívocamente positivos y los controles negativos son inequívocamente negativos. Para lo anterior, en todos los casos se utilizará como control positivo ADN de una especie vegetal cuya adecuada amplificación ya se haya corroborado en experimentos anteriores, mientras que el control</p>		



*“2025, Año de la Mujer Indígena”*

Dice	Debe decir	Justificación*
negativo será sustituir el volumen de ADN por agua grado molecular.		
Un resultado adecuado implica la obtención de un amplicón en el control positivo y la ausencia de bandas en el carril del control negativo.		

\*Para una mejor comprensión de su solicitud adjunte bibliografía u otros documentos que sustenten sus comentarios.

CONSULTA