



PRÁCTICAS SECAS DE LABORATORIO BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

CUARTO BLOQUE

2023-2024

**DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

Elaboración:

Dra. Rebeca Milán Chávez

Dra. Sara Morales López

Dra. Norma Lilia Morales García

ÍNDICE

Práctica	Página
8. Huella génica	3

Práctica 8

Huella génica

Objetivos

Al terminar la práctica el estudiante:

1. *Conocerá la aplicación de las técnicas de DNA recombinante.*
2. *Analizará e interpretará los datos generados a partir de una prueba de huella génica.*
3. *Conocerá el manejo de muestras para el análisis de ácidos nucleicos.*
4. *Desarrollará destreza en la interpretación de resultados de métodos básicos de análisis molecular.*

Es necesario para realizar las actividades propuestas revisar la introducción de la práctica que se encuentra en el Manual de Prácticas.

Gracias al dogma central de la biología (Fig. 1) se han podido analizar diferentes organismos tanto los que contienen como material genético al DNA (ejemplo; eritrocitos, epitelios, plantas) como aquellos con RNA (ejemplo: Retrovirus).

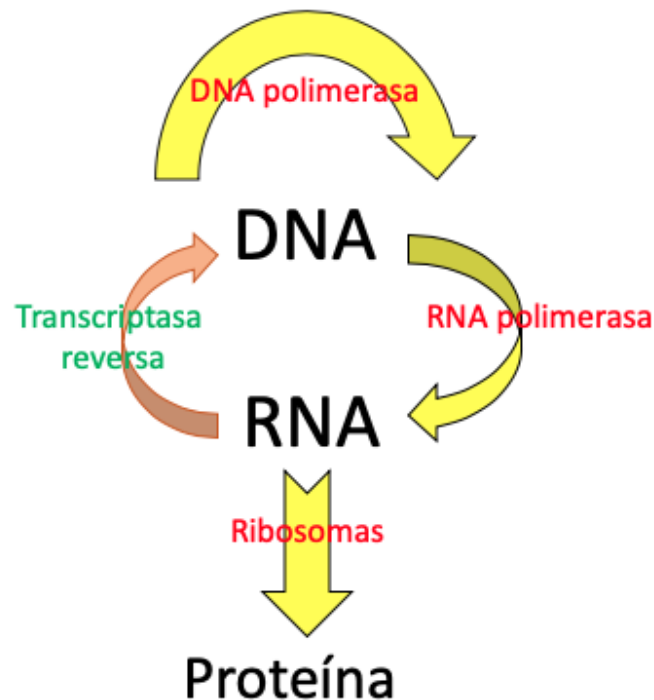


Figura 1. Dogma de biología molecular.

ACTIVIDAD 1

Empleando la siguiente secuencia de DNA. Escriba la secuencia de RNA correspondiente.

5'atgccatttg tggaccctc agcgtcgcac atatacacgc catatctcca accatgccgc
ccaaaaccg attttcagtt ttgaccttc aaggttcctt cacggcgagc gagagagaga 3'

Electroforesis

Es una técnica que se emplea para la separación de moléculas de distintos tamaños en donde se puede usar gel de agarosa (polisacárido de agarosa) o de poliacrilamida (polímero de acrilamida-bisacrilamida) que forman una red permitiendo separar fragmentos de DNA de diferentes tamaños gracias a un campo eléctrico; permite la movilización del DNA aprovechando que contiene carga negativa (conferida por los grupos fosfatos). El movimiento de los fragmentos de DNA en la malla del gel produce un patrón de bandas el cual corresponde al peso molecular de cada fragmento, considerando que el fragmento más pequeño será el que se encuentre más cerca del ánodo (electrodo positivo, Fig. 2). La fragmentación del DNA puede deberse a un proceso de desnaturalización de la muestra o bien por el uso de diferentes enzimas que permite tener una fragmentación controlada del DNA y por lo tanto obtener un bandeo característico de cada muestra.

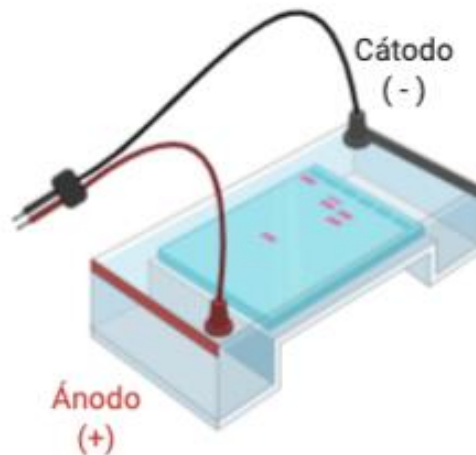


Figura 2. Cámara para electroforesis. Los fragmentos de DNA (color rosa migran del cátodo al ánodo ya que, gracias a los grupos fosfato la muestra posee carga negativa.

Una de las formas para controlar la fragmentación de DNA son las enzimas de digestión o endonucleasas, estas hidrolizan los enlaces fosfodiéster, ya que reconocen unas secuencias palindrómicas presentes en el DNA de doble cadena, por ejemplo, la endonucleasa EcoR1 que reconoce el sitio **GAATTC** como se muestra en la Fig. 3.



Figura 3. Secuencia de corte de la enzima EcoR1.

La digestión de una muestra de DNA por enzimas de restricción es muy utilizada para identificar alteraciones en la secuencia, además de ser una opción cuando no se puede realizar la secuenciación del DNA.

ACTIVIDAD 2

En la Figura 4 se presenta un fragmento de DNA que ha sido cortado por una endonucleasa en 6 segmentos, este DNA se coloca en un pozo de un gel de agarosa.

Con lo descrito anteriormente, esquematice cómo se observaría la separación de los fragmentos señalados con letras en la representación del gel de agarosa.

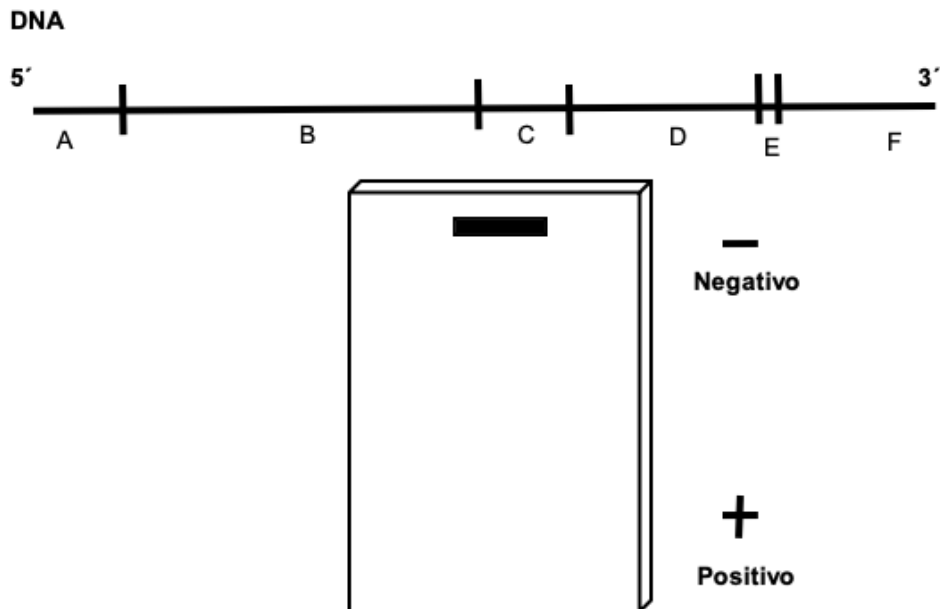


Figura 4. Fragmento de DNA cortado en 6 fragmentos por endonucleasa.

Aplicaciones de Huella génica

Esta técnica es utilizada para:

- Ciencia forense: identificación de restos humanos.
- Legal: Comparación de sospechosos en algún crimen o pruebas paternidad.
- Médico: Compatibilidad en donación de órganos.
- Filogenética: evolución de poblaciones.

Esta técnica es precisa para identificar el perfil genético ya que el DNA es único e invariable a lo largo de toda la vida del organismo en estudio.

ACTIVIDAD 3

A 3 pacientes con síntomas de rinorrea, odinofagia, tos y con fiebre de 2 días de evolución se les realizan tomas de epitelio nasofaríngeo para poder extraer el material genético y realizar PCR y establecer el posible padecimiento.

Los diagnósticos diferenciales son:

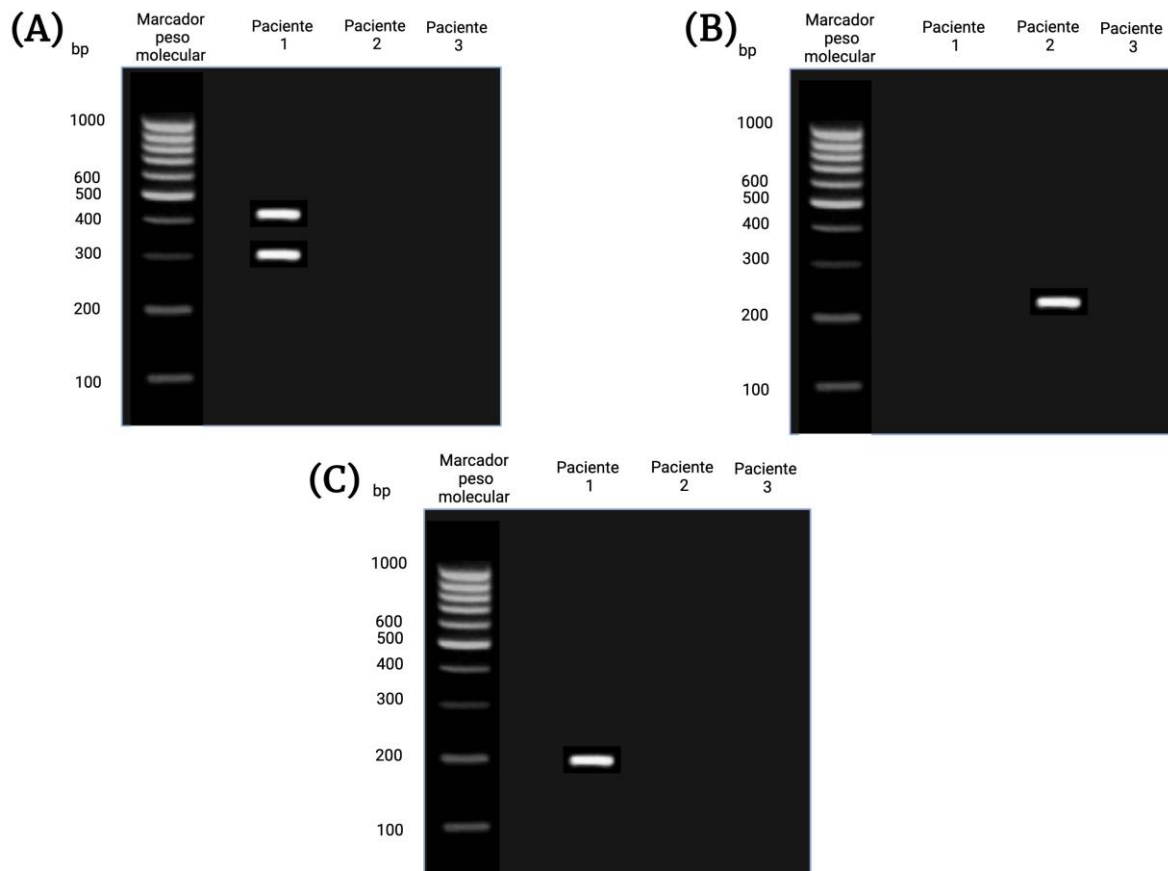
- *Infección por Influenza
- *Infección por SARS CoV2
- *Infección bacteriana

Se presentan 3 geles de los productos de PCR a continuación se describen que “primers” se usaron:

(A) se realizó con “primers” que flanquean a las secuencias de genes de la proteína N que codifica para proteína de nucleocápside de SARS CoV2 (400 pb) y de la proteína S ó proteína Spike (300 pb).

(B) se realizó con “primers” que flanquean a las secuencias de genes de la proteína HA que codifica para hemaglutinina de Influenza (212 pb)

(C) se realizó con “primers” que flanquean a las secuencias de genes de la proteína RdRP que codifica para RNA polimerasa de SARS CoV2 (200 pb).



Park, et al(2020); Hyou, et al (2012)

Indique cual sería el posible diagnóstico de cada paciente considerando los diagnósticos diferenciales:

Paciente 1:
 Paciente 2:
 Paciente 3: