



MEDICINA HUMANA

Nombre del alumno: Sanchez Chanona Jhonatan

Docente: Nájera Mijangos Hugo

Nombre del trabajo: "Ensayo"

Materia: Genética Humana

Grado: 3°

Grupo: "B"

PASIÓN POR EDUCAR

Comitán de Domínguez Chiapas a 29 de octubre de 2021.

Técnicas Moleculares

Introducción

Con base a las enfermedades han surgido técnicas de laboratorio con fundamento en biología molecular aplicadas en programas de prevención, control y tratamiento. Entre las alternativas diagnósticas propuestas a estos retos, se describen técnicas como la reacción de cadena de polimerasa, hibridación de sondas de ADN, secuenciación de genomas, secuenciación paralela, también conocida como masiva o de nueva generación (NGS), pirosecuenciación, Polimorfismo amplificado aleatorio ADN (RAPD) y Polimorfismo de Longitud de Fragmento de Restricción (RFLP) entre otras, cuya introducción en los laboratorios busca brindar apoyo en la obtención de resultados altamente confiables. El descubrimiento de la estructura doble del DNA, la purificación del DNA y el conocimiento de la actividad que presenta ciertas enzimas (endonucleasas de restricción) sobre los ácidos nucleicos, puso en el escenario científico las herramientas necesarias para comprender ciertos procesos fisiológicos. Son muchas las disciplinas que han utilizado las tecnologías moleculares como puente para ampliar el conocimiento y sin duda, en las ciencias relacionadas con el estudio del ojo esta nueva herramienta ha generado un fuerte impacto. La correlación entre genotipo y fenotipo ha permitido precisar la clasificación de enfermedades oculares hereditaria como el albinismo. Igualmente ha generado un nuevo camino para la comprensión de la fisiología de enfermedades con un componente genético en su etiología, como en el caso del glaucoma. A partir de la genética molecular se han desarrollado técnicas, a nivel del DNA, para el diagnóstico prenatal o presintomático de patologías como la Retinitis Pigmentosa y el Retinoblastoma. El uso de la PCR (del inglés Polymerase Chain Reaction), el desarrollo del DNA recombinante y la ingeniería genética ha revolucionado por completo la biología, el estudio molecular ha sido la piedra angular para múltiples adelantos científicos. También se realiza secuenciación a partir de aislamientos puros, de preferencia monospóricos, o rallados de bacterias con colonias individuales; para la identificación a partir de género y especie de cualquier bacteria, hongo o levadura. Por técnicas moleculares es también posible realizar estudios relacionados a resistencia de arvenses u otros microorganismos; estudios sobre microorganismos en suelo; verificar diversidad genética; determinar el origen de las especies a lo largo de la historia; la prevención de enfermedades y la certificación de material vegetal.

Métodos moleculares fenotípicos y genotípicos estos métodos fenotípicos se basan en la determinación de características bioquímicas y/o fisiológicas, constituyen la primera herramienta para la comparación de microorganismos que incluye la determinación de actividades enzimáticas, la capacidad metabólica y los determinantes antigénicos o susceptibilidad a agentes bactericidas; sin embargo, con este tipo de métodos no se pueden identificar genes, polimorfismo o mutaciones que determinen la expresión de las características visibles en medios de cultivos, pruebas bioquímicas y de susceptibilidad.

Los métodos genotípicos estudian el genoma del microorganismo causal de la enfermedad y posibilitan el análisis de características de polimorfismo genético concurrente en los agentes etiológicos.²³ Se basan en la localización del material genético del organismo, lo que permite generar nuevos cambios en el patrón de expresión genética, y brinda alternativas más estables y reproducibles.

Técnica PCR también conocida como Reacción en Cadena de la Polimerasa, principalmente la finalidad de esta técnica es la amplificación en masa de determinado fragmento de DNA por medio de un “termociclador”. Consiste de manera global en una serie repetitiva de ciclos, en la cual cada uno de estos consta de un patrón de desaturación refiriendo a una Temperatura 94°C, un tiempo de alineamiento del “primer” a una temperatura de 45-55°C y un periodo de extensión a una temperatura de 72° C, que se logra mediante una enzima DNA polimerasa termostable, para crear una acumulación de fragmentos específicos. El producto que es sintetizado en cada ciclo puede servir como patrón en el próximo número de copias de DNA, creándose una reacción en cadena que permite amplificar un fragmento específico de DNA, en base en esta técnica ofrece “sensibilidad” debido a que a partir de cantidades muy pequeñas de material genético se detecta la presencia del microorganismo en una muestra; “especificidad” ya que a través de condiciones estrictas se logra amplificar únicamente el microorganismo que se busca detectar; “velocidad” que permite un procesamiento rápido si se compara con otras técnicas para detectar bacterias, hongos y virus, que requieren de cultivos celulares para aislamiento de virus. Finalmente se puede mencionar que ofrece “versatilidad” ya que con el mismo fundamento se permite el diagnóstico de diversos microorganismos. Otra técnica es la Electroforesis de ácidos nucleicos y proteínas. Principalmente la finalidad de esta técnica es separar biomoléculas por peso molecular bajo la acción de un campo eléctrico. De esta forma los fragmentos de DNA que se obtienen a partir de la utilización de enzimas de restricción debido que tienen la capacidad de cortar el DNA en sitios específicos, puede separarse uno del otro mediante la electroforesis en geles de agarosa también conocido como

polisacárido puro que se utiliza para realizar placas de agar. El gel se sumerge en un buffer que es una solución amortiguadora y los fragmentos de DNA se cargan en pozos. Estos se mueven a través del gel por acción de una carga eléctrica. Una vez a transcurrido el tiempo de corrimiento de los fragmentos, el gel se sumerge en un colorante Bromuro de etidio para ser visualizado en un transiluminador observando los diversos fragmentos. Con forme a las técnicas podemos encontrar también la de Secuenciación de DNA su finalidad de esta técnica radica en investigar la secuencia exacta de nucleótidos de un determinado fragmento de DNA. El principio básico de un método se explica que, durante la síntesis de una cadena de DNA, la enzima polimerasa añade los dNTP uno tras otro, en el orden que tiene la cadena molde. Durante este proceso de secuenciación, generalmente se realizan cuatro reacciones correspondientes a cada una de las bases nitrogenadas que hacen parte de la cadena de DNA. otro tipo de técnica es la Clonación de fragmentos de DNA, este método consiste en introducir un fragmento de DNA dentro de un vector, el cual usualmente es un plásmido o un virus ya que poseen una capacidad alta de replicación dentro de las células por lo general abarca diversos procesos principalmente rompimiento de células vivas, sustracción del material genético, la obtención de genes específicos, separándolos del resto de DNA, para esto se utilizan las enzimas de restricción que reconocen y cortan secuencias específicas en el DNA, la incorporación de secuencias específicas de vectores, estos son secuencias cortas de DNA que pueden penetrar la membrana de una célula viva y multiplicarse dentro de ella. Transferencia del vector a la célula hospedera adecuada que usualmente es una bacteria o levadura, y hay una multiplicación celular para formar los clones que contienen millones de células idénticas. Mediante esta técnica se ha transferido un fragmento de gen que no hace parte natural de la célula quedando esta nueva célula con un fragmento de DNA foráneo. Otra técnica es la Terapia génica que busca el reemplazo o recuperación de genes alterados o la incorporación de segmentos de DNA como mecanismos de terapia, por consiguiente, si se conoce el segmento alterado es posible incorporar en la célula defectuosa una copia normal del gen. Por esto es necesario identificar y sintetizar el fragmento de ADN, introducir por métodos físicos, químicos o biológicos el segmento de ADN en las células y finalmente asegurarse que la incorporación de este material no causa efectos secundarios como rechazo por el organismo o reacciones por parte del sistema inmunológico. La incorporación de estos genes se puede realizar en las células somáticas, de esta forma, se cambia el genoma del individuo, pero esta modificación no pasa a los descendientes; por el contrario, si el reemplazo genético se lleva a cabo en los gametos, se cambió se transmite a la siguiente generación.

Conclusión

En general las técnicas moleculares nos sirven para analizar ácidos nucleicos y para detectar, e identificar tanto microorganismos, como diferentes genotipos dentro de una misma especie y genes de resistencia al tratamiento. Todas estas técnicas necesitan un paso previo de extracción de ADN o ARN. Cada técnica sirve para distinta investigación y cada una de ellas tiene una característica específica tanto para la detección de microorganismo y de diversas afecciones.

Bibliografía

1. Angarita Merchán, Maritza, Torres Caicedo, María Inés, & Díaz Torres, Andrea Katherine. (2017). Técnicas de Biología Molecular en el desarrollo de la investigación. Revisión de la literatura. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 16(5), 796-807. Recuperado en 28 de octubre de 2021, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729519X2017000500012&lng=es&tIng=es.
2. Patricia Hernández Rodríguez. Técnicas moleculares: un avance en el diagnóstico y conocimiento de patologías oculares. file:///C:/Users/jhona/Downloads/Dialnet-TecnicasMoleculares-5599388.pdf