



PASIÓN POR EDUCAR



Nombre del alumno:

Rudy Ángel Osvaldo Vázquez
Zamorano

Nombre del profesor:

QFB. Hugo Nájera Mijangos

Nombre del trabajo:

“Mapa conceptual Técnicas
moleculares”

Grado: 3er. Semestre.

Grupo: “A”

Comitán de Domínguez Chiapas a 29 de octubre del 2021

Técnicas Moleculares

Las técnicas de biología molecular 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 farmacológico, todas estas técnicas necesitan un paso previo de extracción de ADN o ARN.

Técnica PCR (Reacción en cadenas de la polimerasa)

Es la amplificación de la masa de determinado fragmento de DNA por medio de un termociclador, consiste de manera global en una serie repetitiva de ciclos, cada uno de los cuales consta de un patrón de denaturación (temperatura 94°C) un tiempo de alineamiento del "primer" (temperatura de 45-55°C) y un periodo de extensión (temperatura de 72°C) que se logra mediante una enzima DNA polimerasa termol estable.

El producto 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, esta técnica ofrece "sensibilidad" debido a que a partir de cantidades muy pequeñas de material genético se detecta la presencia de microorganismo en una muestra.

Electroforesis de ácidos nucleicos y proteínas

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 (que tienen la capacidad de cortar el DNA en sitios específicos) pueden separarse uno del otro mediante la electroforesis en geles de agarosa (polisacárido puro que se utiliza para realizar placas de agar).

El gel se sumerge en un buffer (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 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.

Secuenciación de DNA

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.

Clonación de fragmentos de DNA

El 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.

- 1._Rompimiento de las células vivas.
- 2._remoción del material genético de las células.
- 3._transferencia del vector a la célula hospedera adecuada que usualmente es una bacteria o levadura.
- 4._ multiplicación celular para formar los clones que contiene millones de células idénticas.

Otras técnicas utilizadas a nivel del DNA son el análisis con fragmentos polimorfos de restricción RFLP (polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción) y utilización STR (regiones en tándem pequeñas) en el análisis indirecto de repeticiones CA por PCR donde son utilizados "primer" fluorescentes para regiones específicas en el gen y permiten por consiguiente evidenciar mutaciones en portadoras y afectados.

Terapia Genética

Esta metodología busca el reemplazo o recuperación de genes alterados o la incorporación de segmentos de DNA como mecanismos de terapia, si se conoce el segmento alterado es posible incorporar en la célula defectuosa una copia normal del gen, es necesario identificar y sintetizar el fragmento de ADN, introducir por métodos físicos, químicos o biológicos el segmento de DNA en las células y finalmente asegurarse que la incorporación de este material no causa efectos secundarios como rechazo por el organismo o reacción 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 cambia y se transmite a la siguiente generación.

Bases genéticas de enfermedades oculares comunes

Las enfermedades asociadas con alteraciones oculares pueden originarse a nivel cromosómico, monogénico y multifactorial. A nivel cromosómico se presentan deficiencias por fallas en el número o estructuras de los cromosomas. Los defectos debido al número de cromosomas se pueden denominar aneuploidias y poliploidias. En el primer caso existe pérdida o ganancia de uno o dos cromosomas, siendo al pérdida una monosomía y la ganancia una trisomía; y en segundo caso existen dos o tres juegos completos de cromosomas así: 92, 138, 184...

Los defectos debido a cambios en la estructura pueden darse por duplicaciones, deleciones, constituyen pérdida de un segmento de DNA. Translocación implica que un segmento de cromosoma se adicione a otro, por ejemplo: un fragmento del cromosoma 21 al cromosoma 14; en las inversiones un pedazo de cromosoma se rompe, gira sobre su eje y se reorganiza en el mismo cromosoma y división celular, lo que ocasiona que una célula contenga el brazo largo del cromosoma y no tenga la información correspondiente al brazo corto y viceversa.

Diagnostico molecular de enfermedades oculares adquiridas

Retinitis pigmentosa con patron de herencia diverso

Ceguera nocturna estacionaria congénita

La técnica de Biología Molecular. Especialmente la PCR, ha tenido un gran impacto en el diagnóstico clínico ya que se ha utilizado para confirmar retinitis por citomegalovirus, necrosis aguda retiniana o tuberculosis ocular en pacientes con signos clínicos atípicos. La utilidad de esta técnica en la identificación de agentes virales o bacterianos que causan patologías oculares es enorme ya que posibilita la obtención de material considerable permitiendo, verificar la presencia de un microorganismo determinado en una muestra ocular mínima. (Morris D.J., y col., 1995) determino la presencia de adenovirus en infección ocular estableciendo que la PCR es un método rápido, aseguro y sensible para detectar el virus en esta patología.

Con el advenimiento de tecnología molecular ha sido posible comprender ciertos aspectos de enfermedad como retinitis pigmentosa, microftalmia, retinoblastoma, glaucoma de ángulo abierto, enfermedades oculares por alteraciones en el DNA mitocondrial y varios tipos de distrofia corneal entre otros (7, 8,9, 10,11). También se han clonado genes que causan enfermedades oculares a nivel de segmento anterior y posterior. En segmento anterior básicamente aniridia y anomalía de Peters, enfermedades autosómicas dominantes cuyos genes se ubican en la banda 13 del brazo corto del cromosoma 11; el método de aislamiento utilizado fue clonación posicional y gen candidato respectivamente (12, 13).

En la mayoría de los casos se presenta como autosómica dominante pero también se puede encontrar en forma recesiva o digénica; la posición cromosómica es variada dentro de un mismo patrón hereditario ya que se altera un gen diferente. Es así como para la forma autosómica dominante que afecta la síntesis de rodopsina el gen se ubica entre la banda 21-24 del brazo largo del cromosoma 3, mientras que cuando se afecta la traducción de la periferina el gen responsable está ubicado en la banda 21 del brazo corto del cromosoma 6

En cuanto a la forma autosómica recesiva se han ubicado diferentes genes en el cromosoma 4 y 5 principalmente; en todos los patrones de herencia el método de aislamiento ha sido gen candidato (14, 15, 16, 17, 18).

Enfermedad cuyo patrón de herencia es autosómico dominante. El gen responsable se ubica en la banda 16 del brazo corto del cromosoma 4.

Degeneración de conos: patrón de herencia ligado a X, lo que significa que la enfermedad es transmitida por una madre portadora, donde el 50% de los hijos varones tienen la probabilidad de adquirir la enfermedad y el 50% de sus hijas de transmitirla; el gen se ubica en el brazo largo del cromosoma X y su alteración afecta la síntesis de opsin roja; el método de aislamiento gen candidato (19).

Retinoblastoma: el defecto genético afecta la proteína Rb cuyo gen clonado se ubica en la banda 14 del brazo corto del cromosoma 13; el método de aislamiento clonación posicional.

Neuropatía óptica hereditaria de Leber: asociada con alteración del DNA mitocondrial cuyo defecto involucra la actividad de enzimas mitocondriales (20, 21).

Bibliografía

Morris D.J., et al., "Polymerase Chain for rapid detection of ocular adenovirus infection", J. Med Virol, 1995 Jun; 46(2): 126,32.

<file:///C:/Users/PERSONAL/Downloads/Dialnet-TecnicasMoleculares-5599388.pdf>