



Mi Universidad

súper nota.

Nombre del Alumno: Nohemí Judith escobar ramos.

Nombre del tema: Técnicas básicas para el estudio de marcadores genéticos en criminología

Parcial: 4°

Nombre de la Materia: medicina forense

Nombre del profesor: Dr. Horacio Muñoz Guillen

Nombre de la Licenciatura: medicina humana.

Semestre: 5to.

Técnicas básicas para el estudio de marcadores genéticos en criminología



La identificación con ADN o “huella genética” se basa en el estudio de una serie de fragmentos de ADN presentes en todos los individuos pero que poseen la característica de ser altamente variables o polimórficos entre los mismos.

El análisis de un determinado número de estas secuencias o fragmentos de ADN permite identificar a un individuo con una probabilidad muy cercana al 100%.

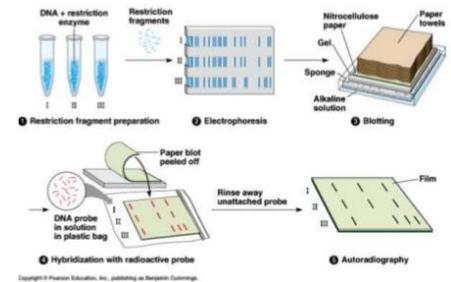
Además de ser muy polimórfico, el ADN que se utiliza para la identificación en Genética Forense es un ADN no codificante o no expresivo, por lo que no revela características fenotípicas de los individuos; este hecho es de gran importancia a la hora de considerar la creación de las bases de datos genéticas.



➤ *hibridación con sondas o Southern blot.*

Etapas:

1. **Digestión** del ADN con enzimas de restricción tras conseguir extraer un ADN de alta molecularidad.
2. Separación de los fragmentos obtenidos por medio de una **electroforesis** en gel de agarosa.
3. **Desnaturalización** de los fragmentos separados y cortados.



4. **Transferencia** de las cadenas simples a una membrana de nitrocelulosa o nylon y fijación de las mismas por medio de calor (80°C).
5. **rehibridación** con sondas de ADN inespecífico para bloquear los lugares de unión inespecíficos que pudiera haber en la membrana.
6. **Marcaje de la sonda** con nucleótidos radioactivos (^{32}P normalmente).
7. **Hibridación** de la sonda marcada y desnaturalizada con los fragmentos de ADN fijados a la membrana, y lavado de la membrana para eliminar el exceso de sonda o aquellas que hayan hibridado mal.
8. **Revelado** en placa radiográfica e **interpretación** de los resultados.

➤ **Análisis por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

1. **DESNATURALIZACIÓN:** Para que comience la reacción es necesario que el ADN molde se encuentre en forma de cadena sencilla. Esto se consigue aplicando temperaturas de 90 a 95°C que producen la rotura de los puentes de hidrógeno intercatenarios y por lo tanto la separación de ambas cadenas. Para conseguir la completa separación de las hebras de toda la muestra esta temperatura debe mantenerse unos minutos. Si el ADN solo se desnaturaliza parcialmente éste tenderá a renaturalizarse rápidamente, evitando así una eficiente hibridación de los primers y una posterior extensión.



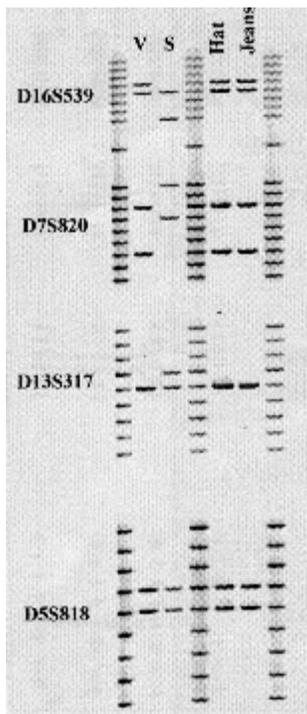
2. **HIBRIDACIÓN:** Esta fase se denomina también fase de “annealing” o de emparejamiento. Una vez que el ADN está desnaturalizado se disminuye la temperatura hasta un rango comprendido entre los 40 y los 60°C para que se pueda producir la unión de los primers a las secuencias flanqueantes del fragmento que se va a amplificar. La temperatura de

fusión o annealing (T_m , “melting temperature”) depende de varios factores y es relativamente específica para cada primer. La longitud de los primers y la secuencia son críticas en la designación de los parámetros de una amplificación, una fórmula simple para calcular la T_m es la siguiente:

$$T_m = 4(G+C) + 2(A+T).$$

No obstante, cada primer exige una serie de estudios experimentales para determinar su temperatura de annealing específica ya que si la temperatura es muy baja la unión se hará de forma inespecífica y si es muy alta no se producirá una unión completa.

3. **EXTENSIÓN:** Durante este paso la *Taq* polimerasa incorpora nucleótidos en el extremo 3' del primer utilizando como molde la cadena de ADN previamente desnaturalizada. La temperatura a la que se lleva a cabo este paso suele ser de 72°C ya que es la temperatura a la que la *Taq* polimerasa alcanza su máxima actividad. Normalmente una extensión de 20 segundos es suficiente para fragmentos menores de 500 pb, y 40 segundos para fragmentos por encima de 1.2Kb.



Bibliografía.

[https://www.ugr.es/~eianez/Biotecnologia/forensetec.h
tm](https://www.ugr.es/~eianez/Biotecnologia/forensetec.htm)