

FILIACIÓN

ALEGRE PATRICIA ANHELÍ
DA LUZ MARCELA MARÍA
RODICH KARINA VIVIANA

- el objeto de los estudios de filiación/ paternidad es demostrar la existencia o ausencia de vínculo biológico entre dos personas
- Condicionan al análisis
 - vínculo que se quiera demostrar
 - número de individuos involucrados
 - tipo de muestra que se dispone

Ahora....cómo se hace un estudio de paternidad / filiación por análisis de ADN?

1- Extracción del ADN



que usamos de muestra???



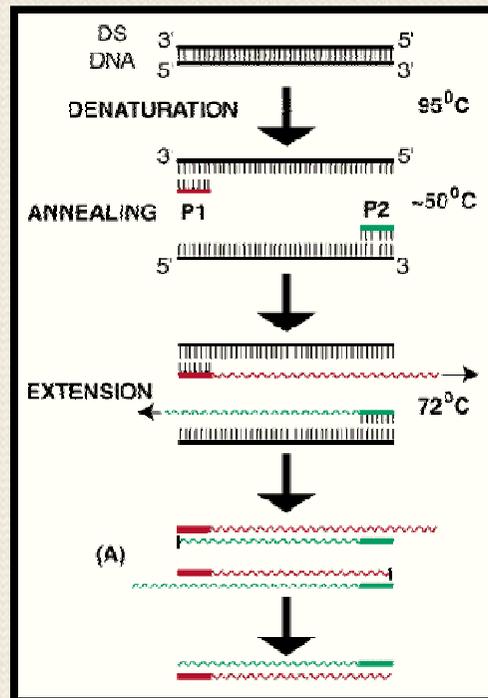
- ↘ ruptura de la estructura celular liberando todo su contenido
- ↘ lavados con solventes orgánicos (fenol, cloroformo), que coagulan proteínas y extraen los lípidos,
- ↘ finalmente el ADN se separa por precipitación con alcohol en medio salino.

2- Análisis del ADN → → → existen dos metodologías

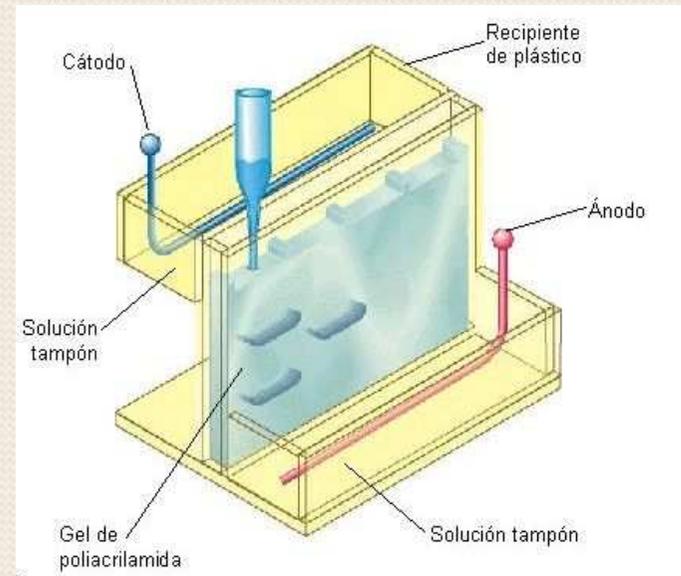
Corte con enzimas de restricción → corrimiento electroforético en geles de agarosa → transferencia a una membrana de nylon o celulosa → tratamiento con sondas de locus múltiple o de locus específico.

Amplificación mediante **PCR** o reacción en cadena de la polimerasa: es un proceso que consiste en imitar una actividad normal de la célula: la copia de ADN, aunque en este caso limitado a pequeños fragmentos, en los cuales están ubicadas las regiones variables.

→ PCR

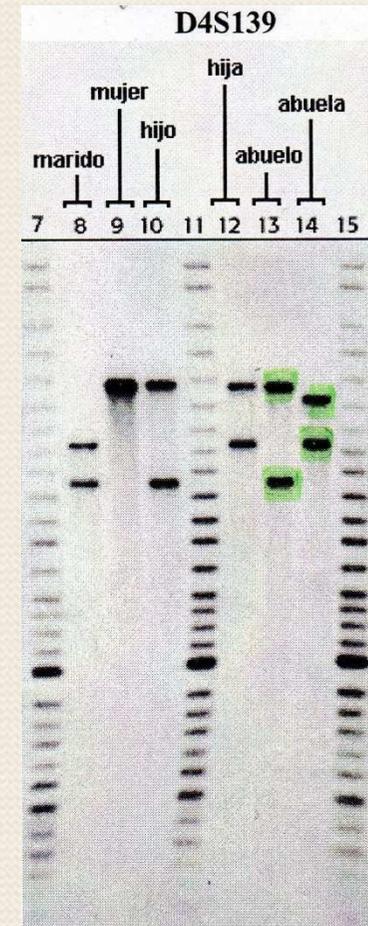


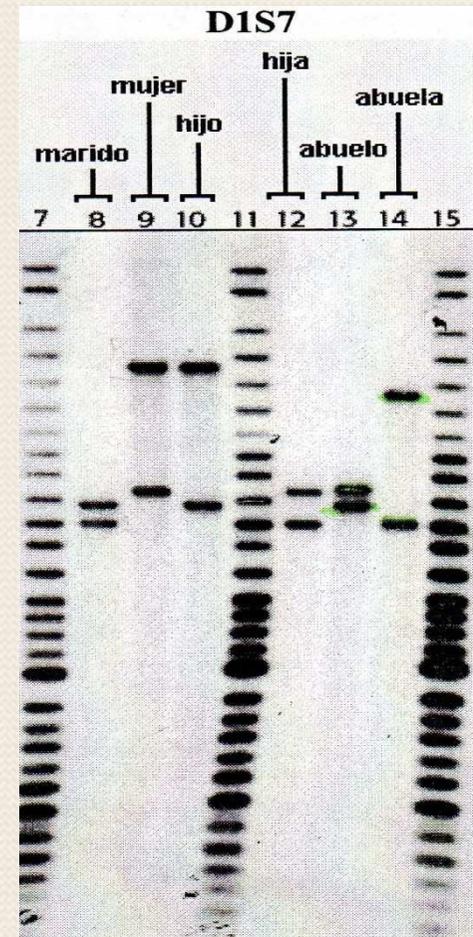
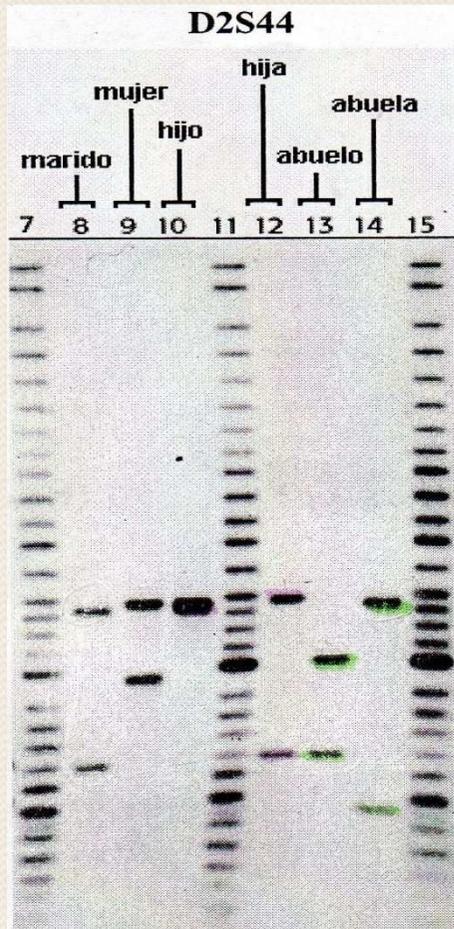
Electroforesis en gel de poliacrilamida



Finalmente, los fragmentos separados se visualizan mediante diferentes métodos:

- ➔ RADIATIVOS
- ➔ TINCIÓN CON PLATA
- ➔ SISTEMAS AUTOMATIZADOS

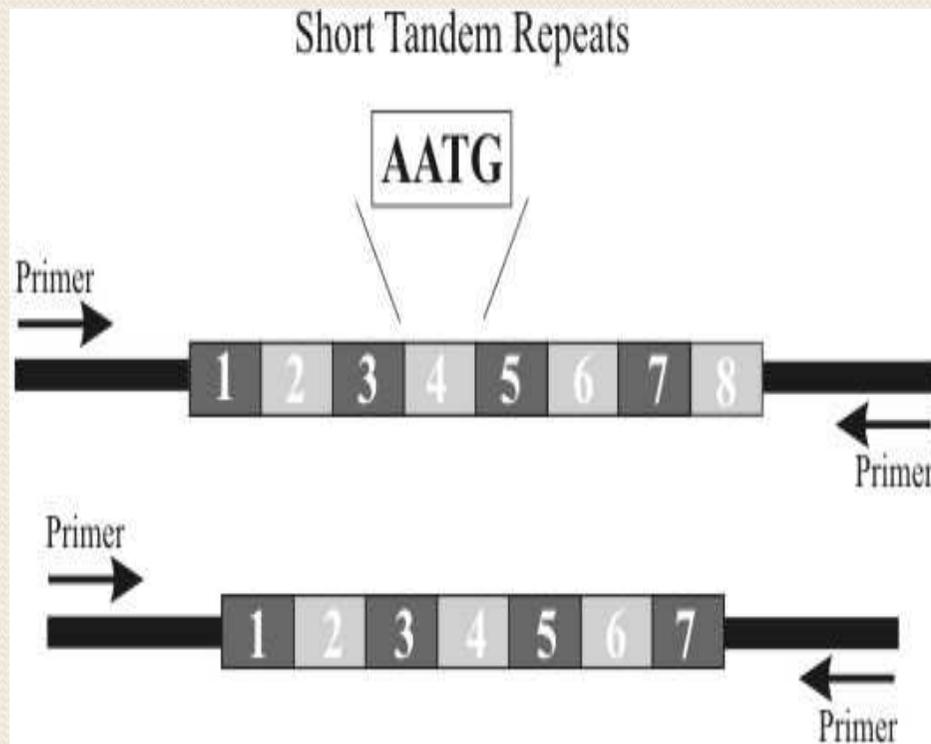




S.T.R.s

- Hoy en día - y desde mediados de los 1990s - la técnica que es considerada como tecnología de punta es la que hace uso de la hipervariabilidad natural de ciertas regiones "silenciosas" del ADN conocidas como [STR](#) (short tandem repeats).

STR- secuencias de 2-7 bp



The flanking regions where PCR primers bind are constant

Homozygote = both alleles are the same length

Heterozygote = alleles differ and can be resolved from one another

Ventajas:

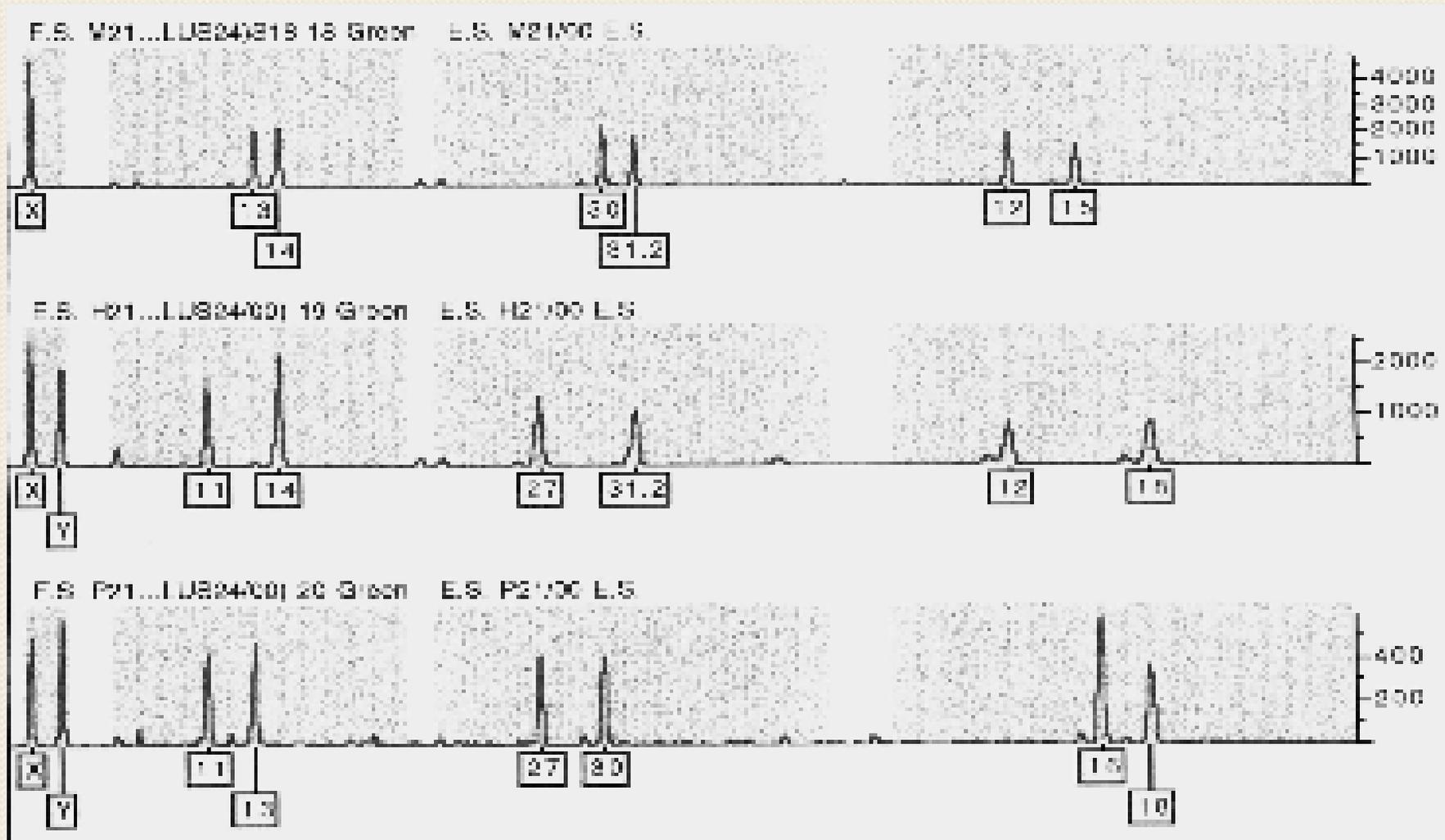
1. Prueba puede realizarse con ADN degradado (pueden analizarse fragmentos más pequeños).
2. Pueden amplificarse pequeñas cantidades de ADN (PCR).
3. Uso de más loci.
4. Pceso rápido. Puede completarse en dos días.

Análisis Genético Automatizado



Analizador Genético ABI 310 Applied Biosystems

Caso de estudio biológico de la paternidad realizado con electroforesis capilar. Cada pico corresponde a un alelo, el hijo (H) debe poseer un alelo de la madre (M) y otro del padre (P) para que la paternidad sea compatible



Ventajas de los Marcadores STR

- Productos de tamaño pequeño son generalmente compatibles con ADN degradado y el PCR permite recuperación de información proveniente de mínimas cantidades del material
- Amplificación 'multiplex' con detección por fluorescencia permite un alto poder de discriminación en una sola prueba
- Disponibles comercialmente en un estuche fácil de utilizar
- Grupo uniforme de STRs provee la capacidad para compartir por medio de base de datos, perfiles criminales de ADN a nivel nacional e internacional

'Multiplex' PCR

(Procesamiento de muestras en paralelo)

- 'Primers' compatibles son la llave para una reacción de 'multiplex' PCR exitosa.
- Estuches de STR están disponibles comercialmente.
- 15 ó más loci de STR pueden ser amplificados simultáneamente.

Ventajas de 'Multiplex' PCR.

- Aumenta la información obtenida por unidad de tiempo (aumenta poder de discriminación).
- Reduce labor para obtener resultados.
- Reduce plantilla de ADN requerida (menos muestra consumida).

A.D.N. MITOCONDRIAL

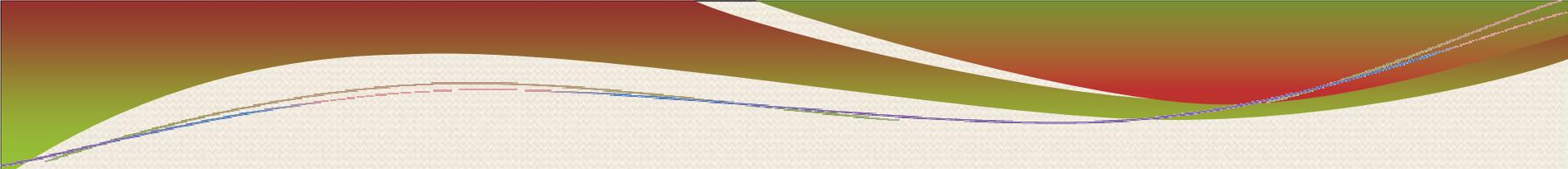


Las mitocondrias son organelos intracelulares presentes en todas las células humanas (excepto los glóbulos rojos maduros). Las mitocondrias son esenciales para la producción de energía, están presentes en el citoplasma de las células y - lo que es relevante aquí - **poseen su propio ADN**. Sucede que cuando ocurre el proceso de fecundación del óvulo por el espermatozoide, sólo el núcleo del espermatozoide logra penetrar el óvulo. En consecuencia, las mitocondrias (y su ADN mitocondrial) del nuevo ser engendrado proviene exclusivamente del óvulo, es decir de la madre

Los casos más sencillos son aquellos en los que se quiere probar la paternidad biológica de un individuo respecto de otro, estando vivas ambas personas.

Madre-Titular -Padre Alegado vivo (el más sencillo)





Cuando el individuo alegado como padre no está disponible (por ej. porque ha fallecido) se puede analizar a sus familiares,

- dando prioridad a sus padres biológicos,

- luego a otros hijos biológicos legalmente reconocidos que el supuesto padre pueda tener,

- luego a hermanos biológicos de éste.

- Cuanto más lejano sea el parentesco, más complejo será el caso.

GRACIAS!!!!



BUEN FIN DE AÑO!!!!