

Tema 3: Biología, Bioinformática y Biología Computacional



**Autores: Peralta Julieta
Stuyck Élian
Racca Santiago
Araujo Iliana**

1. Existen controversias y similitudes entre las definiciones de Bioinformática y de Biología Computacional que puede ser evidenciada en la siguiente definición:

“La biología computacional es a veces definida como sinónimo de Bioinformática y a veces como una disciplina emparentada, pero distinta, de esta. El NIH define a ambas disciplinas como distintas aunque con cierto grado de solapamiento, según esta definición la bioinformática está más relacionada con el desarrollo de herramientas computacionales con el fin de analizar y procesar datos y la biología computacional con el estudio por medios computacionales de sistemas biológicos”

Lea cuidadosamente los textos de las siguientes páginas webs y discuta con sus compañeros si hay o no diferencia entre Bioinformática y Biología Computacional.

¿Deberían fusionarse los términos y por consiguiente su definición?

Webs:

*. <http://www.bioinformaticos.com.ar/biologia-computacional-en-argentina/>

*.

[https://biology.meta.stackexchange.com/questions/168/merging-bioinformatics-and-computational](https://biology.meta.stackexchange.com/questions/168/merging-bioinformatics-and-computational-biology-tags)

[l-biology-tags](#) *.


<https://respuestas.me/q/La-biologia-computacional-es-diferente-de-la-bioinformatica-34039920924>

*

<https://rubencyciencia.wordpress.com/tag/diferencias-entre-bioinformatica-y-biologia-computacion>
al/ *. <http://www.euskonews.com/0334zbnk/gaia33402es.html>

La Biología Computacional y Bioinformática son 2 interdisciplinas que claramente solapan en conceptos y sus aplicaciones pero se observan diferencias. La Biología computacional abarca técnicas computacionales para el estudio en biología y también procesos físicos y químicos, las mismas son más teóricas y están más basadas en el uso de matemáticas y estadísticas como la bioestadística.

En cambio la Bioinformática a nuestro ^{3.1} criterio podría considerarse un rama más específica de la Biología Computacional, la misma está focalizada a la resolución de fenómenos biológicos y complejos de la Biología Molecular a través de softwares que modelen, recolectan y analizan datos biológicos. La utilización de bases de datos masivas compartidas por servidores a nivel global y en sistemas operativos de acceso público como Linux permite que se aplican en análisis de secuencias, biología estructural, genómica y biología de sistemas. También posee un perfil más ingenieril, de hecho existe en diferentes partes del mundo la carrera en Ingeniería en Bioinformática.

Por lo tanto a nuestro criterio consideramos que no son términos que deberían fusionarse, claramente se solapan en definiciones y conceptos, pero existe todavía una diferencia notable entre el campo de estudio de los mismos. 

2. Explique brevemente cómo se aplican las 4V del “Big Data” a las siguientes Bases de Datos Biológicas. Para ello, indague sobre el tipo de datos, estructura de datos, curado de los datos, etc.

Desarrolle las 4V para:

*. GeneBank: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>

- *. RNACentral: <https://rnacentral.org/>
- *. Uniprot: <https://www.uniprot.org/>
- *. KEGG: <https://www.genome.jp/kegg/>
- *. PubMed: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

Las 4 V de big data son Volumen, gran escala de datos; Variedad, formato de los datos; Velocidad de análisis de los datos; Veracidad, certeza de los datos.

Existen cientos de Bases de Datos (BD) por el tipo de información que contienen distinguimos:


- Bases de datos bibliográficas
- Bases de datos taxonómicas
- Bases de datos de nucleótidos
- Bases de datos genómicas
- Bases de datos de proteínas
- Bases de datos de microarrays

La calidad de la información en una base de datos, está muy relacionada con su estructura

Este aspecto también es crucial para su eficiencia y accesibilidad .

En la actualidad no existe ningún formato único y estándar, usualmente cada base de datos impone su propio formato.

Hay **base de datos** que son realizadas de manera **automática o manual** por usuarios no especializados, crecen rápidamente, pero su contenido no es siempre perfecto.

Base de datos curadas las entradas se revisan a mano por expertos, crecen más lentamente, pero ofrecen información fiable. Casi todas las BD importantes tienen ambas versiones, o especifican en cada entrada el "grado de fiabilidad". 

Base de datos de ácidos nucleicos

Base de datos exhaustiva: abarcan diferentes tipos de datos de muchas especies

GenBank es la base de datos de secuencias genéticas del NIH (National Institutes of Health de Estados Unidos), una colección de disponibilidad pública de secuencias de ADN. Realiza una puesta al día cada dos meses.

Volumen y Variedad: GenBank es parte de *International Nucleotide Sequence Database Collaboration*, que está integrada por la base de datos de ADN de Japón (DNA

DataBank of Japan (DDBJ)), El Laboratorio Europeo de Biología Molecular (*European Molecular Biology Laboratory (EMBL)*), y el GenBank en el (NCBI) *National Center for Biotechnology Information*. Estas organizaciones intercambian datos diariamente. GenBank y sus colaboradores reciben secuencias genéticas producidas en laboratorios de todo el mundo, procedentes de más de 100.000 organismos distintos. GenBank continúa creciendo a ritmo exponencial, doblando la cantidad de información contenida cada 10 meses. ✓

Velocidad y Veracidad: Las comunicaciones directas con GenBank se hacen utilizando BankIt, que es un formato basado en la Web, o el programa independiente Sequin. Tras la recepción de una secuencia, el personal de GenBank asigna un número de acceso a la secuencia y realiza controles de calidad. Luego, las presentaciones son publicadas en la base de datos pública, en donde las entradas son recuperables por [Entrez](#) (Global Query Cross-Database Search System) o se puede descargar por [FTP](#) (File transfer protocol). La mayoría de las presentaciones de Expressed Sequence Tag (EST), Sequence Tagged Site (STB), Genome Survey Sequence (SSG) y High-Throughput Genome Sequence (HTGS) son presentadas por los grandes centros de secuenciación. El grupo de presentaciones directas de GenBank también procesa las secuencias completas del genoma microbiano. ✓

Base de datos genómica

RNAcentral

Volumen, Variedad, Velocidad, Veracidad : Es una base de datos gratuita y pública donde integra el acceso a la comprensión y actualización de secuencias no codificantes de ARN provistas por grupos colaborativos de base de datos de expertos, esta base de datos está coordinada por el Instituto Europeo de Bioinformática, permite realizar nuevas clasificaciones de RNA y diagramas de estructuras. ✓

KEGG

Volumen, Variedad, Velocidad, Veracidad : **KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) (Enciclopedia de Genes y Genomas de Kioto)** es una colección de bases de datos en línea de genomas, rutas enzimáticas, y químicos biológicos. La base de datos PATHWAY registra las redes de interacciones moleculares dentro de las células, y variantes de ellas específicas a organismos particulares. A partir de julio de 2011, KEGG ha cambiado a un modelo de suscripción y **el acceso a través de FTP (File transfer protocol) ya no es gratis.** ✓

Base de datos de proteínas

Uniprot

Volumen, Variedad, Velocidad, Veracidad : UniProt (*Universal protein*) es un repositorio central de datos gratuito sobre proteínas. Esto lo ha convertido en el recurso líder a nivel mundial en cuanto al almacenamiento de información sobre proteínas. La mayoría de entradas proviene de proyectos de secuenciación del genoma, y se encuentran publicadas en revistas científicas.

El consorcio UniProt comprende el Instituto Europeo de Bioinformática (EBI), el Instituto Suizo de Bioinformática (SIB), y Protein Information Resource (PIR). EBI se encuentra localizado en el Wellcome Trust Genome Campus en Hinxton (Reino Unido). Este cuenta con una gran fuente de bases de datos y de servicios bioinformáticos. SIB se encuentra en Ginebra (Suiza). Mantiene los servidores de ExPASy (Expert Protein Analysis System), los cuales son un recurso central para herramientas proteómicas, así como para bases de datos. PIR se encuentra en la National Biomedical Research Foundation (NBRF), localizada en el Hospital Universitario de Georgetown, en Washington D. C. (Estados Unidos). Es precursora de la base de datos más antigua de secuencia de proteínas, el Atlas de Secuencia y Estructura de Proteínas, publicada en 1965 por Margaret Dayhoff.



Base de datos bibliográfica

PubMed

Volumen, Variedad, Velocidad, Veracidad : De fácil acceso, indispensable para la difusión y conocimiento de la producción científica, en general se caracterizan por tener información básica sobre:

1-El documento (generalmente artículos) como título, tipo de documento, palabras claves, idioma y descriptores.

2-La fuente de donde provienen los documentos (principalmente revistas) título, año de publicación, volumen, número y páginas


3-La autoría como el nombre o nombres de los autores, institución de inscripción y país.

El sistema de búsqueda PubMed es un proyecto desarrollado por NCBI que permite el acceso a base de datos como MEDLINE o PreMEDLINE (citadas enviadas por los editores), tiene una buena colección de información de biología molecular, bioquímica y medicina.

Su ámbito principal es la medicina por lo que puede haber información de otro tipo

de publicaciones que no estén incluidas. Incluye títulos, autores y un resumen de la publicación.

Entre las características más importantes a considerar en una BD bibliográfica están la cantidad de registros y el tipo de campos que capturan, las herramientas de búsqueda, manejo y análisis de los registros, así como la cobertura de la tipología y temática.

Actualmente la búsqueda de información en este tipo de BD es una de las tareas más frecuentes para obtener información precisa y útil dirigida a solucionar un problema científico. 

7.1

Tema 3.2

1. Busque y desarrolle brevemente 2 o 3 (dos o tres) metodologías y técnicas utilizadas en los laboratorios, tanto a escala simple como a gran escala, para el estudio de:

*. Ácidos Nucléicos.

*. Proteínas

*. Metabolitos

Metodología y técnicas para el estudio de ácidos nucleicos

PCR (polymerase chain reaction)

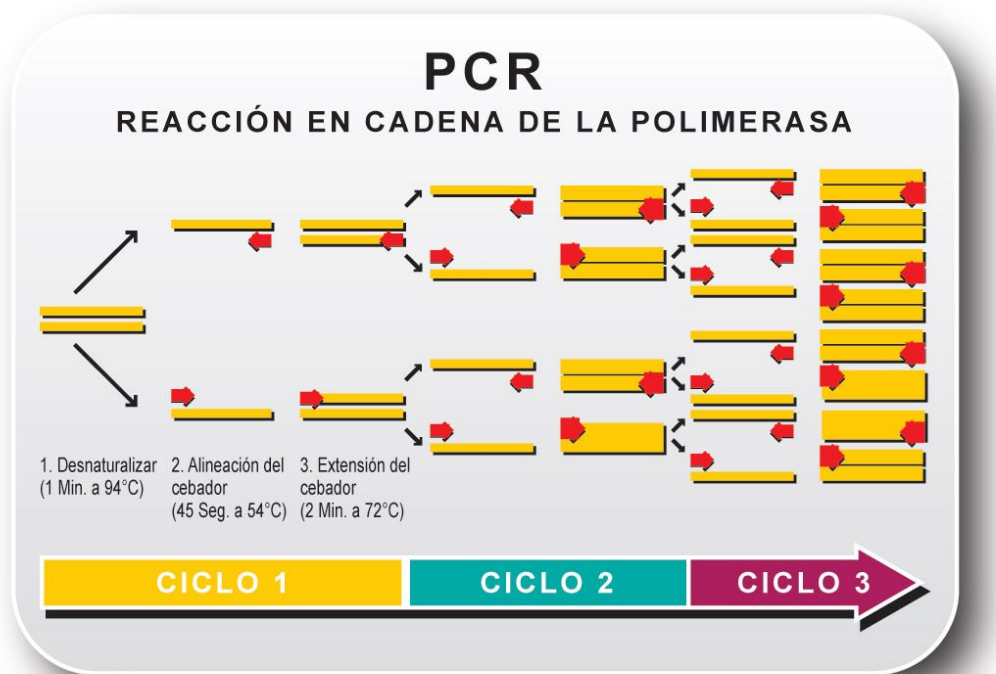
La PCR interviene en la mayoría de los métodos moleculares y citogenéticos. Se obtienen por este medio múltiples copias de DNA, un resultado exitoso consiste en la amplificación uniforme y específica del DNA diana. Hay diferentes factores que influyen en el resultado de una PCR : la especificidad de los cebadores, la existencia de estructuras secundarias que afectan el DNA, un alto contenido de GC (tres puentes de hidrógeno) y la presencia de repeticiones en tándem. Se puede realizar amplificación

mediante PCR estándar, secuenciación de DNA, producción y amplificación de librerías de cDNA, PCR múltiplex.

PASOS

- a. La mezcla de reacción contiene la secuencia de DNA que se quiere amplificar, dos oligonucleótidos sintéticos (P1 y P2) que servirán como cebadores, una DNA polimerasa termoestable (Taq) y los cuatro desoxirribonucleótidos trifosfato -dATP, dGTP, dCTP y dTTP-.
- b. La mezcla de reacción se somete a ciclos sucesivos, cada uno correspondiente a una fase de desnaturalización, una de hibridación y una de elongación. Durante la desnaturalización, que se realiza por calentamiento de la mezcla a 95 °C, se separan las dos cadenas del DNA molde.
- c. Durante la hibridación, la temperatura de incubación se reduce para permitir el apareamiento de las bases de ambos cebadores en el sitio donde encuentran una secuencia complementaria.
- d. Durante la fase de elongación, la mezcla se calienta a 72 °C, temperatura a la cual la DNA polimerasa extiende la cadena complementaria a partir del extremo 3' de los cebadores. Al finalizar cada ciclo, la cantidad de DNA molde disponible para el ciclo siguiente aumenta al doble. Entre muchas de las aplicaciones que la PCR pone a disposición se encuentran la detección precoz o prenatal de enfermedades genéticas, la detección de infecciones virales latentes o la producción de grandes cantidades de fragmentos de DNA humano a una velocidad muy superior a la posible mediante otros métodos. Esta técnica también se aplica para estudios de identidad y filiación.





Hibridización

La hibridación de ácidos nucleicos (ADN o ARN) es un proceso por el cual se combinan dos cadenas de ácidos nucleicos antiparalelas y con secuencias de bases complementarias en una única molécula de doble cadena, que toma la estructura de doble hélice, donde las bases nitrogenadas quedan ocultas en el interior. Esto hace que si irradiamos la muestra con la longitud de onda a la que absorben estas bases (260 nm), la absorción de energía será mucho menor si la cadena es doble que si se trata de la cadena sencilla, ya que en esta última los dobles enlaces de las bases nitrogenadas, que son las que captan la energía, están totalmente expuestos a la fuente emisora de energía.

Los nucleótidos se unirán con sus complementarios bajo condiciones normales: A=T; A=U; C≡G; G≡C; T=A o U=A

Así que dos cadenas perfectamente complementarias se unirán la una a la otra

rápidamente. Por el contrario, debido a las diferentes geometrías de los nucleótidos, una simple variación de las parejas anteriores lleva a inconsistencias entre las cadenas y dificultará la unión.

El proceso de hibridación no se puede revertir simplemente calentando la disolución que contiene la molécula. El porcentaje de GC dentro de la cadena condiciona la temperatura de alineamiento y de desnaturalización ya que G se une a C mediante tres puentes de hidrógeno y A se une a U o T mediante dos puentes de hidrógeno; por tanto, y dado que se requiere más energía para romper tres enlaces que para romper dos, dicha energía se traduce en una mayor temperatura. El % GC no es igual para todas las especies, es más, el %GC es distinto incluso entre el ADN nuclear y el ADN mitocondrial, lo que nos da bastante juego en los protocolos de extracción de ADN, según qué tipo vamos a estudiar y esto es importante, entre otros motivos porque existen enfermedades genéticas debidas a mutaciones en el ADN mitocondrial.

En biología molecular experimentalmente se llevan a cabo dos tipos diferentes de hibridación: Tipo Southern, para uniones ADN-ADN y tipo Northern blot, para uniones ADN-ARN.



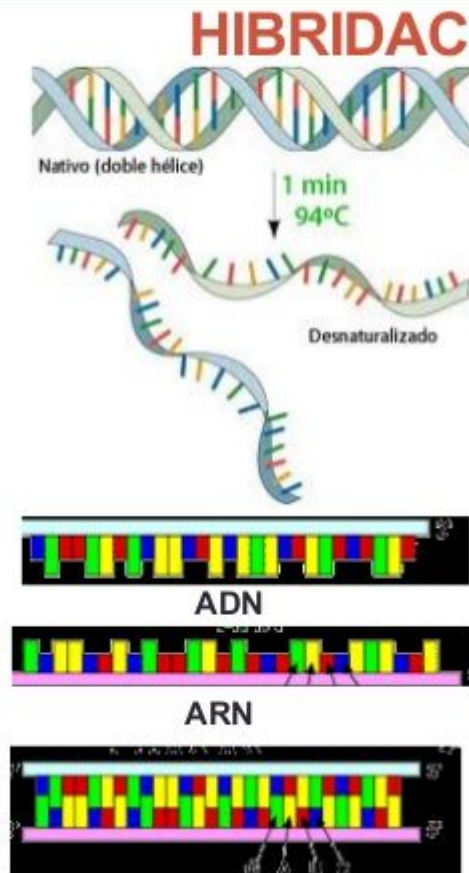
1. La hélice de doble cadena (ADN) se separa mediante un proceso físico (calor) o químico (con una base fuerte, como la sosa cáustica). Esto rompe los enlaces por puente de hidrógeno que mantienen unidas las dos hebras del ADN.
2. Las dos hebras complementarias se separan, el ADN se desnaturaliza.
3. Una muestra de cadenas simples (o desnaturalizadas) se mezcla con otra muestra de cadenas simples.
4. La muestra combinada se enfría lentamente, las moléculas sencillas se van emparejando por las zonas complementarias (más estables termodinámicamente) y se va formando una nueva molécula hibridada

La velocidad de hibridación es un indicativo de la similitud genética entre las dos muestras. El porcentaje de similitud genómica y la velocidad de hibridación es directamente proporcional.

Existen tres tipos de hibridaciones de ácidos nucleicos que se usan frecuentemente en los laboratorios que utilizan técnicas de biología molecular.

Ambos métodos utilizan una cadena sencilla de ADN marcada por un método físico-químico, bien sea con radiactividad o bien con un fluorocromo. Esta cadena tiene una secuencia de nucleótidos conocida y se utiliza como **sonda** para detectar otras

moléculas de ARN o ADN de cadena sencilla de secuencia parecida.



HIBRIDACION MOLECULAR

Técnica que permite la formación de cadenas complementarias de ADN-ARN

Utiliza altas temperaturas para desnaturalizar el ADN y separar las cadenas.

Si baja la temperatura se vuelven a aparear las cadenas complementarias. Algunas se aparean con ARN y se produce la hibridación.

Híbrido ADN-ARN

Southern

El método tipo **Southern** o **Southern blot** fue desarrollado para la detección de genes específicos en el **ADN** celular.

El ADN es digerido con una enzima de restricción y los fragmentos son separados por tamaños mediante electroforesis en un gel. A continuación los fragmentos de ADN de doble cadena son desnaturalizados mediante un proceso químico separando las dos hebras componentes del ADN en sus cadenas sencillas. Posteriormente, el ADN inserto en el gel es transferido a un filtro de nitrocelulosa, con lo que en el filtro queda representada una réplica de la disposición de los fragmentos de ADN presentes en el gel.

A continuación el filtro se incuba durante un tiempo con la sonda marcada (radiactivamente o con un fluorocromo); durante la incubación la sonda se va hibridando con las moléculas de ADN de cadena sencilla de secuencia complementaria (o muy parecida). La sonda unida al fragmento de ADN complementario se puede visualizar en el filtro de una forma sencilla mediante una exposición a una película de rayos X para el caso de sondas radiactivas o con una película sensible a la luz, para el caso de sondas con fluorocromo



Northern

El segundo método, tipo **Northern blot** o **Northern**, se utiliza para identificar las cadenas de **ARN** de secuencia semejante al ADN que se usa como sonda; a diferencia del tipo Southern que se utiliza para identificar ADN, el método Northern sirve para identificar ARN.

El ARN se extrae y se fracciona en tamaños variables mediante una electroforesis en gel de poliacrilamida en unas condiciones que mantienen las cadenas de ARN en estado desnaturalizado. El proceso continúa de forma semejante a la hibridación de tipo Southern. El método del Northern se utiliza muy frecuentemente para realizar estudios de expresión génica; para conocer qué genes están activos formando ARN mensajero en qué condiciones, en qué tejidos o tipos celulares.



Hibridación *in situ*

Un desarrollo de las técnicas de preparación y fijación de materiales biológicos para su observación al microscopio, junto con el desarrollo de técnicas de hibridación tipo Northern ha llevado a poder realizar la hibridación de las sondas directamente sobre tejidos de material orgánico. Utilizando técnicas inmunohistoquímicas se puede conocer la localización precisa de los tejidos y células que están expresando los genes de secuencia complementaria a las sondas utilizadas. También en esta categoría destaca el FISH, técnica de hibridación *in situ*, donde las sondas son secuencias de ADN marcadas que se unen a secuencias de ADN conocidas dentro del cromosoma, con las que comparte un alto grado de similitud y que podemos observar con un microscopio óptico de fluorescencia.



Técnicas de análisis de los patrones de metilación

Las técnicas de análisis de los patrones de metilación se dividen en dos grupos las que investigan la metilación específica de locus y la de análisis del genoma global, la amplificación directa por PCR no puede utilizarse en los estudios de metilación, ya que la DNA polimerasa borra todas las marcas de metilación en el DNA molde, actualmente se realiza una modificación con bisulfito que permite mantener las marcas de metilación y

posteriormente puede someterse a amplificación por PCR.

También se puede realizar la secuenciación directa de los productos, la sensibilidad de esta técnica puede ser del 5%, es de alto rendimiento pero laboriosa y cara.



NGS (next generation sequencing)

El concepto de NGS sirve para englobar todas las tecnologías destinadas a llevar a cabo la secuenciación masiva a gran escala de cualquier ácido nucleico en la actualidad.

Para conseguir estos logros, fue inevitable reducir el tamaño de lectura, hecho que dificultará el posterior análisis bioinformático. El tamaño de lectura es muy importante a la hora de secuenciar, porque cuanto mayor sea la longitud de la secuencia, el fragmento del genoma cubierto es también más grande, por lo que, en el posterior análisis bioinformático, hay un menor número de lecturas que solapar. En cambio, si las lecturas son más cortas, el fragmento del genoma cubierto es más pequeño, y con ello el número de lecturas finales para tratar de cubrir el genoma completo será mucho mayor, hecho que dificultará el ensamblaje en el posterior análisis.

Las plataformas de secuenciación NGS son múltiples y variadas, cada una con sus respectivas particularidades, pero todas ellas tienen en común que la detección del ácido nucleico no es aplicable a una única molécula, por lo que se requiere de una previa amplificación del fragmento a secuenciar para poder obtener lecturas secuenciadas del mismo. Este proceso puede darse o bien mediante una PCR en emulsión o una PCR puente. En el primer caso, la mezcla de reacción consiste en una emulsión aceite-agua creada para encapsular complejos entre el ADN y nanoesferas, dentro de gotículas de agua. Tras la emulsión, se lleva a cabo la amplificación, de tal manera que cada nanoesfera queda recubierta por varios miles de copias de la misma secuencia molde formando una colonia (nombre que recibe el conjunto de copias de la misma secuencia). Dependiendo de la plataforma NGS, estas nanoesferas se unen químicamente a la superficie de cristal (SOLID) o se depositan en los pocillos de las placas multipocillo empleadas en dicha plataforma (454 Life Sciences y Ion Torrent). En el segundo caso, la secuenciación tiene lugar sobre una placa de vidrio, sobre la que están dispuestos adaptadores complementarios a los adaptadores anclados en las secuencias desnaturalizadas a secuenciar. Así, cada fragmento de ADN monocatenario se unirá por uno de sus extremos a uno de los oligonucleótidos complementarios presentes en la placa. Tras la acción de la polimerasa, que utiliza estos adaptadores como cebador, se sintetiza la cadena complementaria, quedando inmovilizada. Seguidamente, tendrá un nuevo ciclo de desnaturalización, provocando que las hebras desnaturalizadas formen puentes gracias a la unión de su extremo libre con otro de los adaptadores inmovilizados en la placa. Este proceso se repite varias veces, hasta formar lo que se

conoce como clusters, una agrupación de secuencias idénticas



CHIP DNA

Un chip de ADN (del inglés *DNA microarray*) es una superficie sólida a la cual se une una colección de fragmentos de ADN. Las superficies empleadas para fijar el ADN son muy variables y pueden ser de vidrio, plástico e incluso de silicona. Los chips de ADN se usan para analizar la expresión diferencial de genes, y se monitorizan de manera simultánea los niveles de miles de ellos. Su funcionamiento consiste, básicamente, en medir el nivel de hibridación entre la sonda específica (*probe*, en inglés), y la molécula diana (*target*), y se indican generalmente mediante fluorescencia y a través de un análisis de imagen, lo cual indica el nivel de expresión del gen.

Suelen utilizarse para identificar genes con una expresión diferencial en condiciones distintas. Por ejemplo, para detectar genes que producen ciertas enfermedades mediante la comparación de los niveles de expresión entre células sanas y células que están desarrollando ciertos tipos de enfermedades.



Tipos

Microarrays de dos canales

En este tipo de chips de ADN (en inglés *spotted microarrays*), las sondas son oligonucleótidos, ADN complementario (ADNc) o pequeños fragmentos de reacción en cadena de la polimerasa, que corresponden con ARN mensajero (ARNm). En este tipo de chip de ADN se utilizan preparaciones de ADNc obtenido a partir de dos muestras biológicas distintas; por ejemplo, de células cultivadas en dos distintas condiciones. El ADNc de cada muestra se marca con un fluoróforo diferente, y las dos preparaciones de ADNc marcadas se mezclan e hibridan sobre el mismo chip de ADN. Una vez realizado este primer paso, se procede al escaneo del resultado y a la visualización del mismo. De esta forma se pueden detectar genes que se activan o se reprimen en distintas condiciones. La contrapartida de estos experimentos es que no se pueden observar niveles absolutos en la expresión y requieren qPCR para un análisis cuantitativo absoluto.

14.1



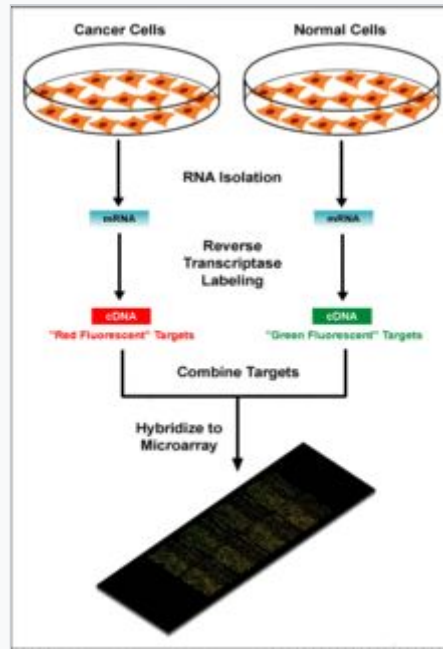


Diagrama de una experimento típico de chip de ADN con doble canal

Chips de oligonucleótidos de ADN

15.1

En los chips de oligonucleótidos de ADN o micromatrices de canal único, las sondas se diseñan a partir de una secuencia conocida o un ARNm predicho. Estos chips de ADNs dan estimaciones del nivel de expresión, pero en una misma matriz no pueden observarse distintas condiciones, por lo que por cada condición se debe utilizar un chip.

Idea principal: las sondas se sintetizan *in situ* (en el chip).

15.2

No están basadas en la hibridación competitiva. Esto quiere decir: un chip, una muestra. Las secuencias se construyen en la superficie del chip mediante el elongamiento secuencial de una cadena en crecimiento con un solo nucleótido utilizando fotolitografía.

GeneChips de Affymetrix

- Affymetrix es la compañía líder en este tipo de chips.
- Se denominan genéricamente "GeneChips".
- Cada gen está representado por un conjunto de secuencias cortas que lo

- caracterizan.
- Algunos chips: genomas completos con más de 50.000 grupos de sondas.



Chips de ADN para genotipado

Los chips de ADN pueden utilizarse para "leer" las secuencias de un genoma particular en determinadas posiciones. Los SNP arrays son un tipo particular de matrices que se utilizan para identificar variaciones individuales y a través de poblaciones. Los oligonucleótidos pequeños son capaces de identificar polimorfismos de un solo nucleótido (en inglés *SNPs*, *single nucleotide polymorphisms*) que podrían ser los responsables de variaciones genéticas dentro de una población, la fuente de susceptibilidad a distintas enfermedades genéticas e incluso a ciertos tipos de cáncer. En general, la aplicación de estas técnicas de genotipado es forense, ya que son rápidas en descubrir o medir la predisposición de enfermedades o incluso permitir el uso de ciertos medicamentos para tratar ciertas enfermedades según sea el ADN del enfermo o donante. Los chips de ADN de SNPs también se utilizan para la identificación de mutaciones somáticas en cáncer, sobre todo la pérdida de *heterocigosis*, la amplificación o la delección de regiones de ADN en el genoma individual de pacientes afectados, es decir, la detección de aberraciones cromosómicas.



Aplicaciones

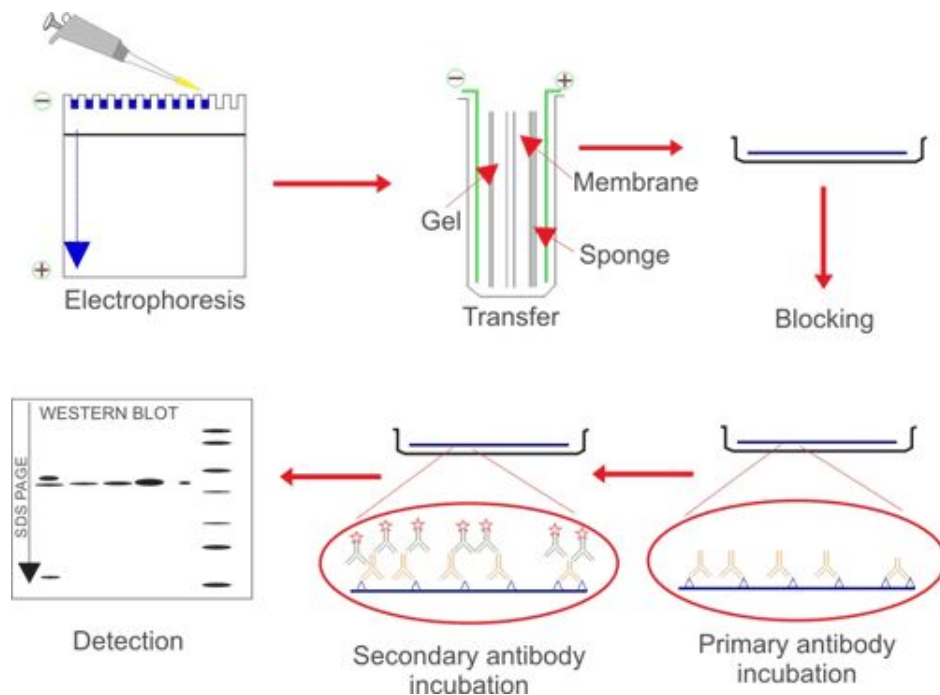
Los chips de ADN se han aplicado al estudio de casi cualquier tipo de problema biológico. El número de publicaciones anuales es muy alto y continúa creciendo. Algunas de sus aplicaciones más frecuentes son:

- Estudio de genes, que se expresan diferencialmente en condiciones diversas (sanos/enfermos, mutantes/salvajes, tratados/no tratados).
- Clasificación molecular en enfermedades complejas. Identificación de genes característicos de una patología (firma o *signature*).
- Predicción de respuesta a un tratamiento.
- Detección de mutaciones y polimorfismos de un único gen (SNP).

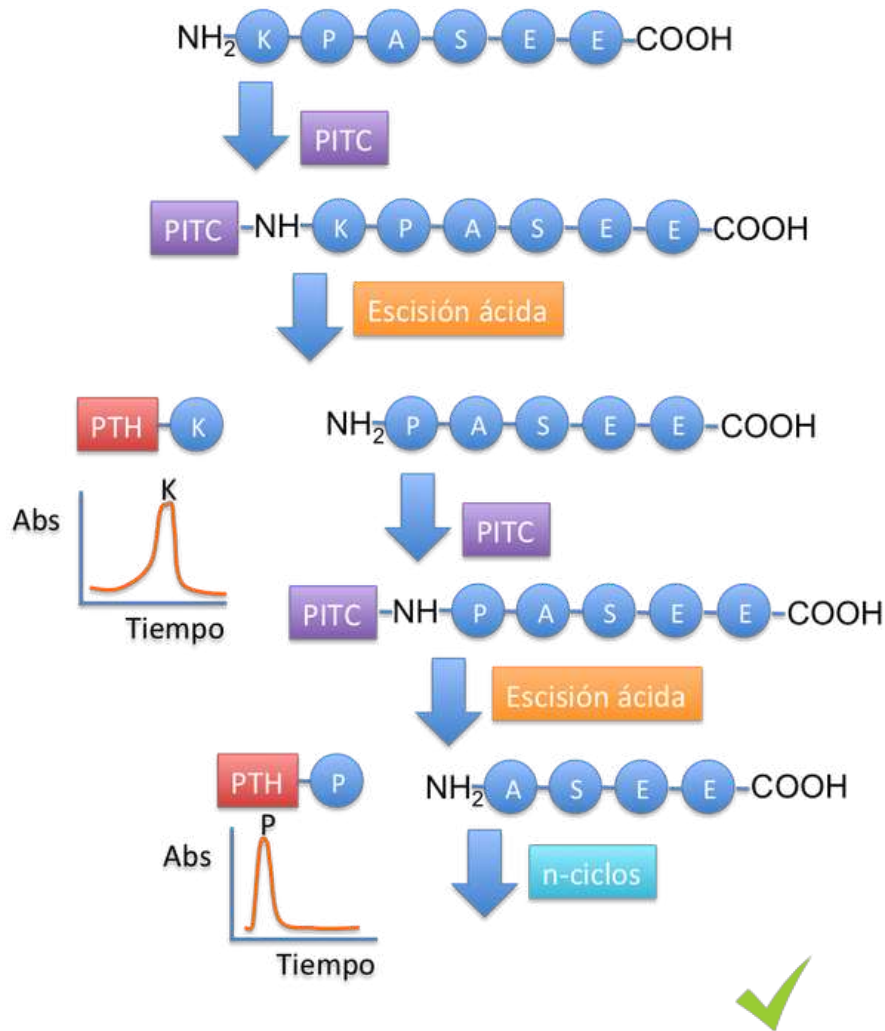


PROTEÍNAS:

- a) **Western blot:** es una técnica de laboratorio utilizada para detectar una proteína específica en una muestra de sangre o tejido. El método implica el uso de electroforesis en gel para separar las proteínas de la muestra. Las proteínas separadas se transfieren del gel a la superficie de una membrana. La membrana se expone a un anticuerpo específico contra la proteína en estudio. La unión del anticuerpo se detecta usando un marcador radiactivo o químico. Un Western Blot se utiliza a veces para diagnosticar enfermedades. ✓




- b) **La degradación de Edman:** es un método de secuenciación de aminoácidos en un péptido, donde el residuo amino terminal se etiqueta y se separa del péptido sin afectar a los enlaces peptídicos entre los otros residuos.





c) **Microarrays:** permiten el estudio simultáneo y masivo de miles de proteínas, aunque, respecto a los arrays de ADN, los de proteínas aún se encuentran en una fase temprana de su desarrollo enfrentándose a muchos retos diferentes. La mayoría de estos retos tienen su origen en la necesidad de mantener la estructura 3D y las propiedades físico-químicas de las proteínas, fruto de su enorme complejidad y variabilidad. Sin embargo, a pesar de estos retos, progresivamente se van desarrollando, ampliando y mejorando los procedimientos implicados en sus múltiples aplicaciones.

Técnicas y metodologías utilizadas en el laboratorio de Toxicología y Metabolismo nacional para la identificación y la cuantificación de los **METABOLITOS**:

a) Electroforesis Capilar, técnica de referencia por su alta sensibilidad y especificidad.

b) Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC), emplea un cromatógrafo de última generación, con inyección automática y detección mediante arreglo de diodos que posibilita la determinación y detección de numerosas sustancias en muestras biológicas. 

c) Valoración de HbA1c (Hemoglobina glicada) por electroforesis capilar, mediante el equipo Capillarys Flex Piercing 2. Esta metodología, registrada por NGSP, permite utilizar la HbA1c como criterio diagnóstico de Diabetes; debido a que la misma no se ve afectada por la presencia de las principales variantes de hemoglobina. 

d) Identificación y cuantificación de VORICONAZOL en plasma humano. En la terapéutica es crítico el manejo de las dosis ya que es una droga con alta eficacia, pero que puede provocar efectos adversos no deseados. Por lo tanto, el monitoreo de los niveles séricos resulta decisivo para mejorar la efectividad y seguridad del tratamiento en pacientes con micosis invasivas. 

e) Electroforesis en gel de Agarosa, técnica semi-automatizada de alta resolución. Esto nos permite brindar resultados confiables, informes completos con electroferogramas y cromatogramas característicos de estas técnicas analíticas.

Fuente: <https://fpmlab.org.ar/institucional/laboratorios/laboratorio-de-toxicologia-y-metabolismo/>

Índice de comentarios

- 3.1 ¿Por qué afirma esto?
- 7.1 Como comentario general a todas las bases de datos, es el de tener siempre presente si los datos son generados automáticamente, son "curados o ambos."
- 14.1 Cuidado!, la qPCR tampoco realiza un análisis cuantitativo absoluto, salvo una variante de ella denominada "digital qPCR"
- 15.1 ¿qué significa predicho?
- 15.2 Cuidado! se están mezclando conceptos relacionados a esta metodología