

## Les empremtes d' ADN. Proves de paternitat. Guia didàctica

En gran grup: la presentació i el debat final.

En dos grups: el treball pràctic (un grup l'apartat A i l'altre el B)

El grup que porti a terme l'apartat A necessitarà per fer la pràctica al laboratori virtual, els documents que es troben a la carpeta "mostres de DNA".

### Respostes a les preguntes:

#### **A.-PROVES DE PATERNITAT- (Família Pi-Blanch i presumpta filla)**

##### **Activitat.- 1- Informe pericial de paternitat**

##### **1.-Fonaments biològics**

Els perfils de DNA utilitzen les variacions (o polimorfismes) de repeticions de seqüències de DNA.

Els polimorfismes es troben principalment en les regions intergèniques (no en els gens) dels cromosomes, especialment a prop dels centròmers.

Són seqüències polimòrfiques els microsatèl·lits "short tandem repeats" (STR) seqüències de 2 a 8 nucleòtids que es repeteixen.

En un locus polimòrfic, cada unitat pot estar repetida diferent número de vegades. S'anomenen al·lels a les variants (núm. de repeticions) que té cadascun en un mateix locus de cada cromosoma homòleg.

Cada persona hereta un cromosoma homòleg de cadascun dels seus progenitors i, per tant, un al·lel de cada locus amb polimorfismes.

Observarem els dos al·lels d'un sol locus de cada individu estudiat. Si és la filla, un al·lel ha de coincidir amb el del pare i un altre amb el de la mare.

Si s'estudien suficients marcadors, el perfil genètic final pot ser relativament únic a cada individu.

##### **2.- Metodologia**

##### **1.-Extracció del DNA de les 3 mostres de saliva:**

La saliva conté cèl·lules de l'epiteli bucal que es desprenen contínuament. Amb una solució de sal comuna (NaCl) provoquem la lisi de les cèl·lules i els nuclis, quedant lliure les fibres de cromatina. El detergent compleix la missió de formar un complex amb les proteïnes histones i separar-les del ADN.

##### **2.-Enzims de restricció**

Tallen els extrems que flanquegen el tàndem

##### **3.- Electroforesi**

Separació dels fragments d' ADN segons la longitud. La mostra de fragments d' ADN (que tenen càrrega negativa) es fan córrer sobre un gel d' agarosa i s'aplica un corrent elèctric. Els fragments més petits d' ADN corren més de pressa a través del gel cap a l'elèctrode positiu.

##### **4.- Southern ("Southern blot")**

S'impregna el gel d' agarosa amb una dissolució alcalina, l' ADN és desnaturalitza i se separen els dos filaments.

Es posa una làmina de niló prima sobre el gel i damunt un paper assecant. El DNA monocatenari es transfereix a la superfície de la membrana de niló.

### **5.- Hibridació amb sonda radioactiva.**

La sonda és una molècula petita d' ADN senzilla complementària de la mostra que volem identificar. Per facilitar la detecció és marcada amb un isòtop radioactiu.

S'incuba la membrana de niló en una dissolució que conté la sonda radioactiva . La sonda només s'unirà a un fragment d' ADN que contingui una seqüència de nucleòtids complementària. Es renta l'excés de sonda no enganxada.

### **6.- Detecció de polimorfismes mitjançant una autoradiografia.**

Les sondes es localitzen utilitzant raigs X.

Observarem dues bandes que tenen diferent posició (per al·lells heterozigòtics) o una banda (per al·lells homozigòtics) que corresponen als dos al·lells d'un sol locus de cada individu estudiat. Si és la filla un al·lel ha de coincidir amb el pare i un altre amb la mare.

**En el laboratori virtual de la Universitat Internacional Virtual podreu:**

Enzim EcoRV . La seqüència diana és: gat\_atc| cta\_tag

### **3.-Resultats. Interpretació dels resultats**



Autoradiografia dels resultats

Observarem dues bandes que tenen diferent posició (per al·lells heterozigòtics) o una banda (per al·lells homozigòtics) que corresponen als dos al·lells d'un sol locus de cada individu estudiat. Si és la seva filla un al·lel ha de coincidir amb el pare i un altre amb la mare.

En el carril del mig, que correspon a la presumpta filla, una banda (1053k) coincideix amb la del pare i l'altra coincideix amb la de la mare (908k).

### **4.- Conclusió**

**Podem concloure que:**

Sí, és la seva filla biològica.

## B.-PROVES DE PATERNITAT- (La família Puig-Costa i presumpte fill)

### Activitat.- 1- Informe pericial de paternitat

#### 1.-Fonaments biològics

S'analitzen 15 marcadors autosòmics STR (fragments curts d' ADN repetit) i el marcador de gènere Amelogenina (sexe).

Un individu té 2 còpies (al·lels) per a cada marcador, un l'hereta de la mare i l'altre del pare. Es comparen els perfils genètics de la mare i el fill amb el del presumpte pare.

Cada pic representa un al·lel. Cada locus està representat per un parell de pics (heterozigot) o per un sol pic (homozigot). En cada pic hi ha el número de repeticions. Quan només se'n veu un vol dir que l'al·lel és homozigòtic.

#### 2.- Metodologia

##### 1.-Extracció del DNA de les 3 mostres:

Ja explicat

##### 2.-Amplificació de la regió d' ADN que conté el polimorfisme

PCR. S'amplifiquen només els al·lels (microsatèl·lits) dels marcadors. S'amplifica la mateixa regió d' ADN en cada un dels cromosomes homòlegs.

Els primers es marquen amb marcadors fluorescents. Els al·lels amplificats són fluorescents.

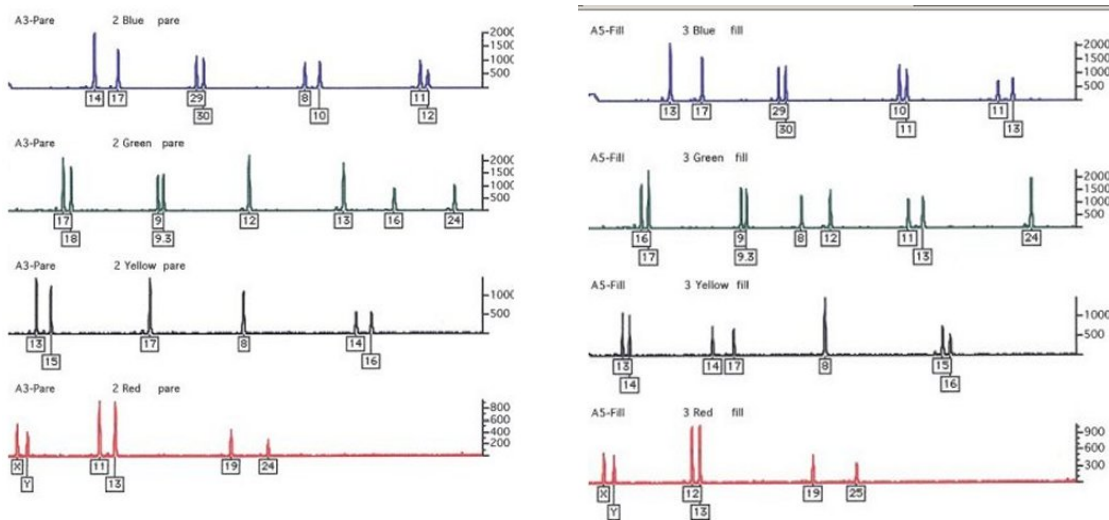
##### 3.-Electroforesi

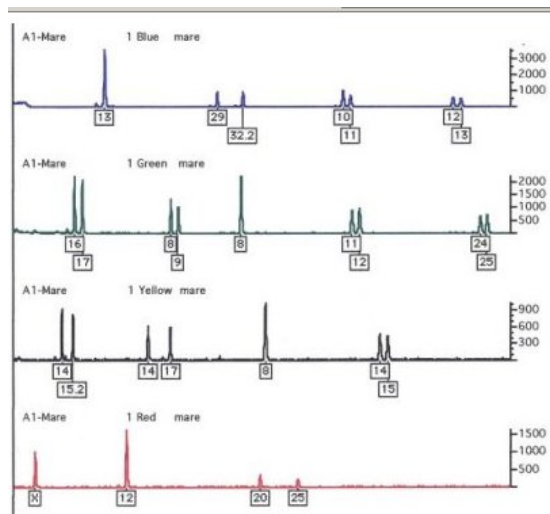
Ja explicat

##### 4.-Detecció dels marcadors

Cada fragment amb marcador fluorescent és detectat quan passa per un làser situat a l'extrem del gel. El làser llegeix els 4 colors i dibuixa un gràfic d'acord amb les mides i els colors dels fragments amplificats.

#### 3.-Resultats. Interpretació dels resultats.




**Genotip:**

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
13/17	29/30	11/10	13/11	16/17	9/9,3	8/12	11/13	24/24	14/13	14/17	8/8	15/14	12/12

No hi ha cap incompatibilitat genètica entre els pares i el presumpte fill. Tots els al·lels de cada marcador del fill corresponen un amb els de la mare i l'altre amb els del pare. La compatibilitat en tots els marcadors significa que la prova de paternitat ha estat provada a un grau raonable i que existeix una relació biològica entre els participants en la prova.

**4.- Conclusió**

Podem concloure que: els individus analitzats són els pares biològics.



Autocorrecció