

Análisis de paternidad usando Cibertorio

(Este guión está pendiente de un desarrollo más detallado.)

Instrucciones básicas:

Objetivo:

Analizar los marcadores polimórficos para determinar cuál de los 4 candidatos es el padre. El ensayo consiste en, partiendo de las muestras de DNA de cada uno de los padres potenciales, de la madre y del hijo/a, realizar una amplificación por PCR de los 4 marcadores STR y separar los fragmentos amplificados mediante electroforesis. Por comparación de los patrones de bandas, deducir cuál de los 4 candidatos es el padre (o descartar los cuatro).

1.

En el **formulario de pedido**, debes comprar

- El "grupo de muestras para análisis de paternidad", que contiene las siguientes muestras de DNA:
 - DNA de un hijo o hija (**H**).
 - DNA de su madre (**M**).
 - DNA de cuatro varones cuya paternidad se desea evaluar (**P1, P2, P3, P4**).
- Cebadores de PCR para cuatro marcadores STR (**D8S1179, D18S51, D21S11, FGA**).
- Reactivos ("PCR master mix") para realizar PCR múltiplex.

Nota: cada vez que se hace un pedido, las muestras de DNA de padres e hijos son diferentes.

2.

En el **laboratorio de reacciones**, prepara en los tubos 1 a 6 sendas mezclas de reacción para el ensayo de PCR. Debes poner

- En cada tubo, **20 µL** de una de las 6 muestras de DNA (M, H, P1, P2, P3, P4).
- En todos los tubos, **5 µL** de la mezcla de reactivos para PCR ("PCR mix").
- En todos los tubos, **1 µL** de cada uno de los cebadores para los 4 marcadores STR.
- Completa con agua el volumen hasta un total de 50 µL (es decir, **21 µL** de agua).

3.

Pon en marcha la reacción de **PCR** pulsando en el botón "**Comenzar**". Transcurrido el tiempo virtual requerido, se habrá completado la amplificación del DNA de los marcadores STR. Un mensaje te confirmará lo que se ha amplificado, por si te equivocaste.

4.

En el **laboratorio de electroforesis** (usa el menú principal de Cibertorio, parte superior derecha de la ventana, para llegar a él).

- Elige el gel de tipo **poliacrilamida 5%** (abajo a la izquierda, bajo el gel).
- Pulsa el botón "**Autocargar**", que hará que las 12 muestras preparadas en el

laboratorio de reacciones se transfieran a los 12 primeros pocillos del gel virtual; en el pocillo nº 13 se carga automáticamente una mezcla de patrones de tamaño ("escalera de DNA").

- Ajusta en la fuente el voltaje a **300 voltios** y el tiempo a **1 hora y 10 minutos** virtuales. Conecta la corriente para comenzar la electroforesis. Mientras progresa, puedes encender la **luz UV** (asegúrate de tener puestas tus gafas o careta virtuales de protección) y apagar las **luces de la habitación** virtual para ver cómo va avanzando el DNA y separándose las bandas.

5.

Una vez completada la electroforesis, copia la pantalla o dibuja un esquema de la posición de las bandas e interpreta los resultados obtenidos: ¿puede afirmarse, con cierta probabilidad, que uno de los 4 candidatos es el padre?