



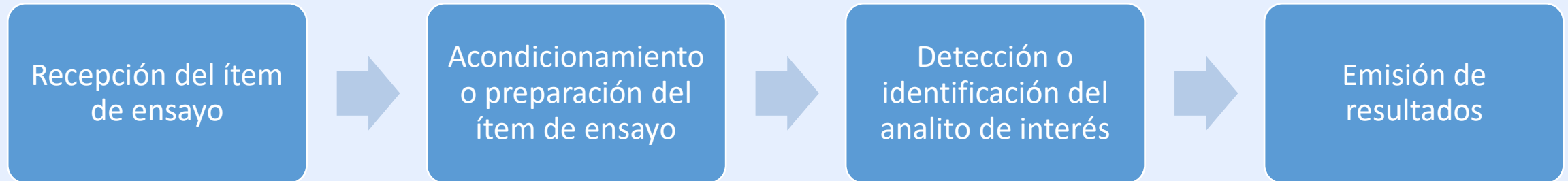
**La salud
es de todos**

Minsalud

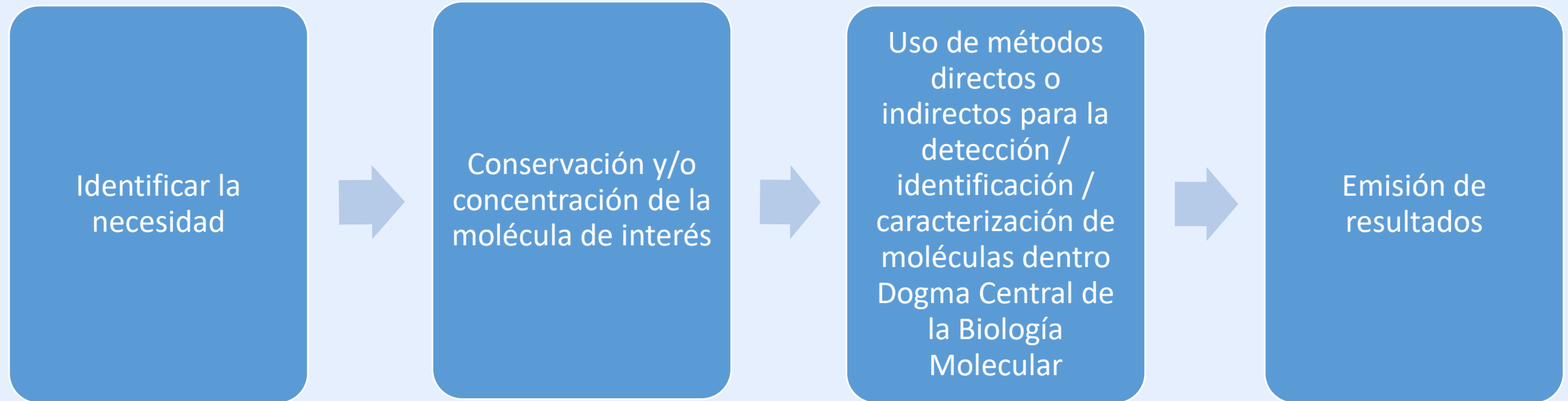
APLICACIONES DE BIOLOGÍA MOLECULAR EN LOS LSP-Dr.

Andrés Felipe Vela Rojas M.Sc.

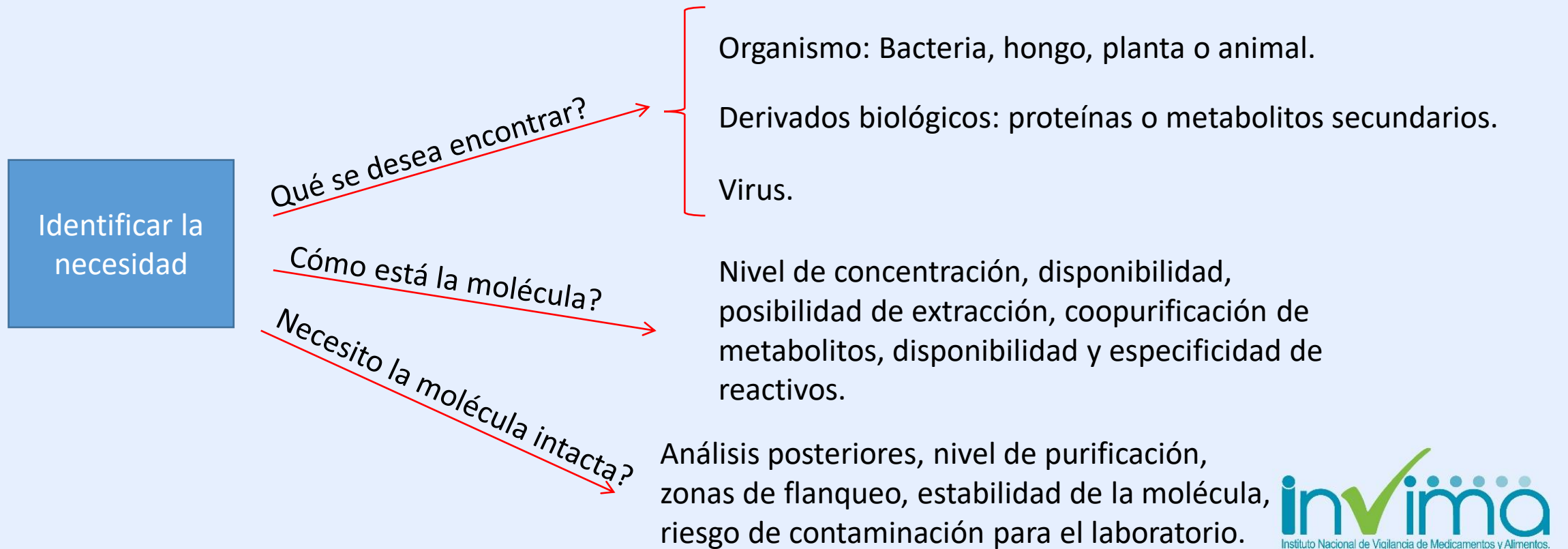
Que hace un Laboratorio de ensayo ?



Que hace un Laboratorio de ensayos de Biología Molecular?



Recepción del ítem de ensayo



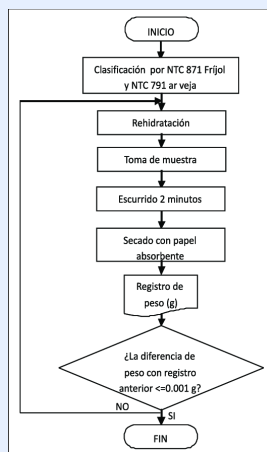
Acondicionamiento o preparación del ítem de ensayo

Conservación
y/o
concentración
de la molécula
de interés

1. Métodos implementados por otros Laboratorios o empresas
2. Métodos desarrollados por el Laboratorio.
3. Implementación de métodos de otros sectores.

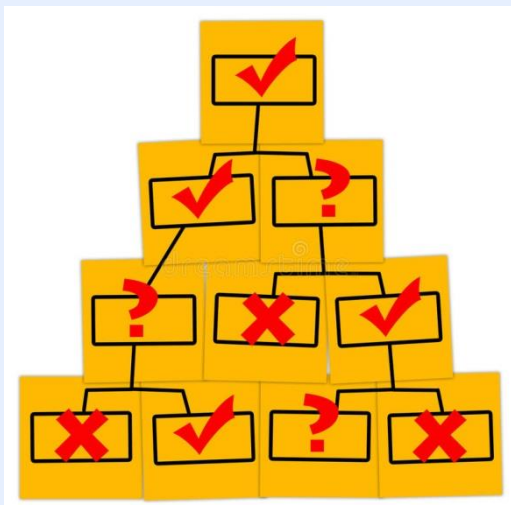
Acondicionamiento o preparación del ítem de ensayo

1. Métodos implementados por otros Laboratorios o empresas.



Acondicionamiento o preparación del ítem de ensayo

2. Métodos desarrollados por el Laboratorio.



Recomendación: desarrollar sus propios métodos para toda la cadena de valor. La responsabilidad de sus resultados no pueden quedar en una empresa que se dedica a hacer método GENÉRICOS (avellar 28/08/2020).

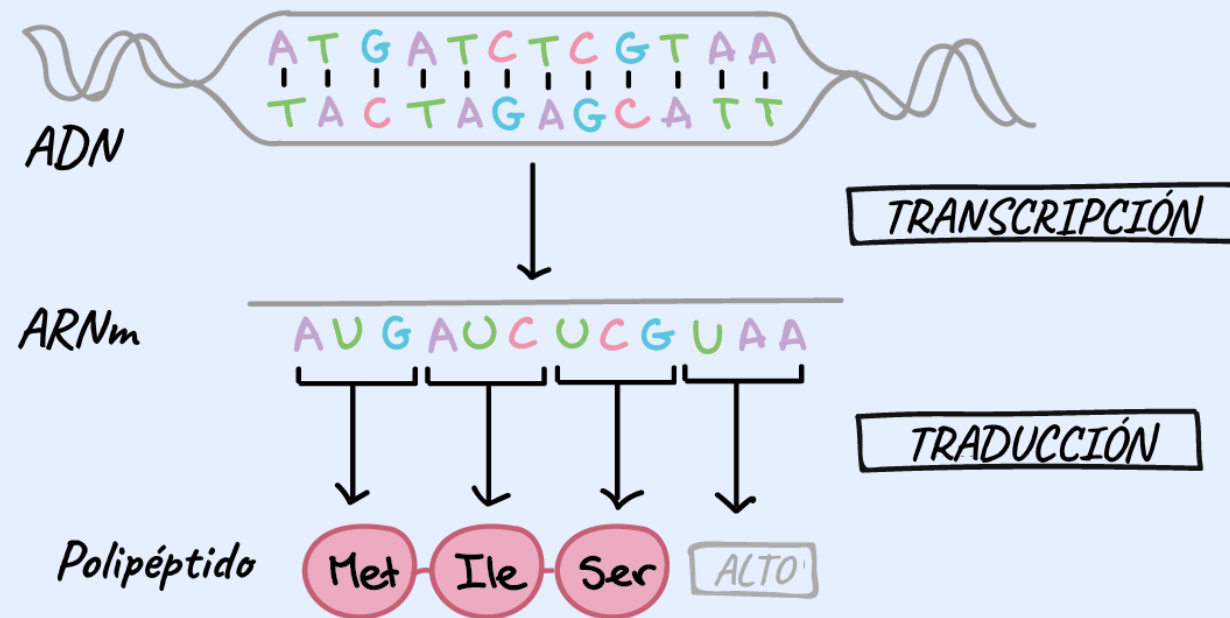
Acondicionamiento o preparación del ítem de ensayo

3. Implementación de métodos de otros sectores.



Detección / identificación / caracterización de moléculas dentro del DCBM

EL DOGMA CENTRAL



Tomado: <https://es.khanacademy.org/science/high-school-biology/hs-molecular-genetics/hs-rna-and-protein-synthesis/a/intro-to-gene-expression-central-dogma>

Detección / identificación / caracterización de moléculas dentro del DCBM

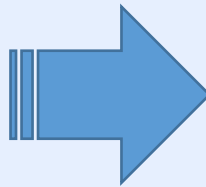
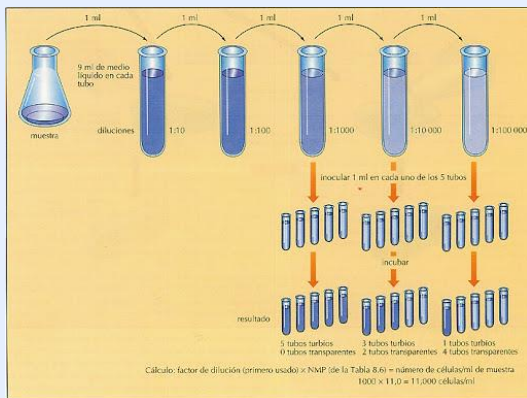
ADN	ARN	PROTEINAS
Síntesis de oligonucleotidos.	Síntesis de oligonucleotidos.	Producción de anticuerpos
Mantenimiento y construcción de genotecas.		
Transformación genética.		
Clonación.		
PCR (variantes).	RT-PCR.	
Southern blot.	Northern blot.	Western blot.

Detección / identificación / caracterización de moléculas dentro del DCBM

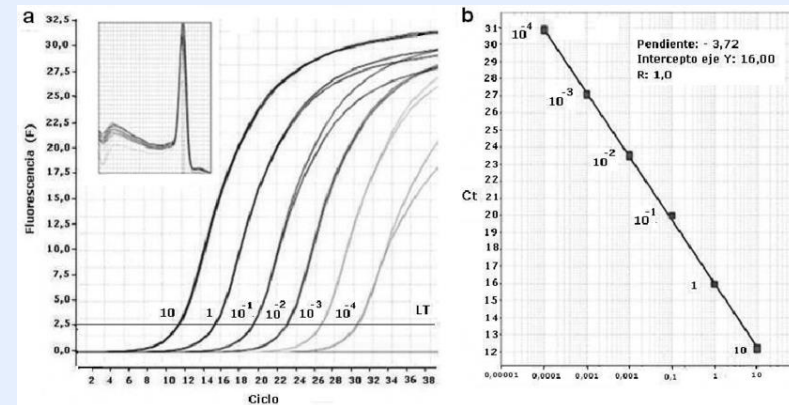
ADN	ARN	PROTEINAS
Microarrays (Expresión génica).	Microarrays (Expresión génica).	
Electroforesis.	Electroforesis.	Electroforesis.
Espectrofotometría.	Espectrofotometría.	Espectrofotometría.
		Colorimetría.
RFLP (polimorfismos de fragmentos).	RFLP (polimorfismos de fragmentos).	
CRISPR (Edición Genética).	CRISPR (Edición Genética).	

Detección / identificación / caracterización

NMP o Método de ceros de Poisson



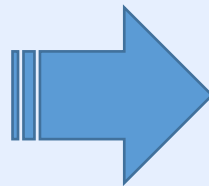
Curva estándar por PCR en tiempo real



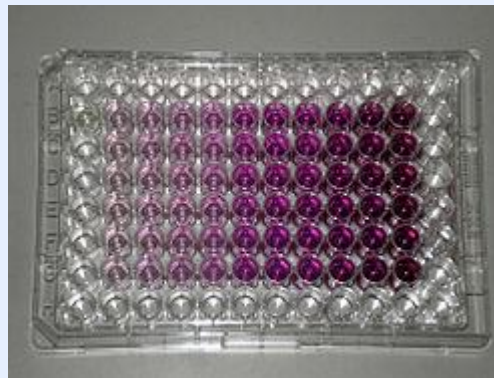
- ✓ Mayor sensibilidad.
- ✓ Mejor oportunidad.

Detección / identificación / caracterización

Equipo automatizado de ELISA
en sándwich asociado la
fluorescencia indirecta



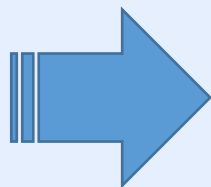
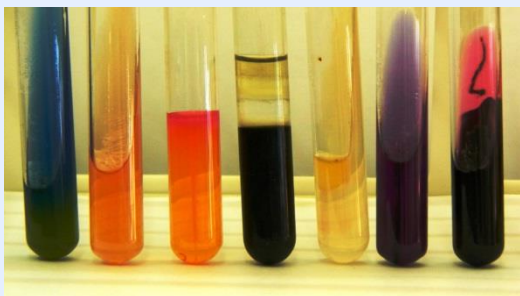
Lectura cualitativa,
semicuantitativa o cuantitativa
de ELISA por lectores de
microplaca.



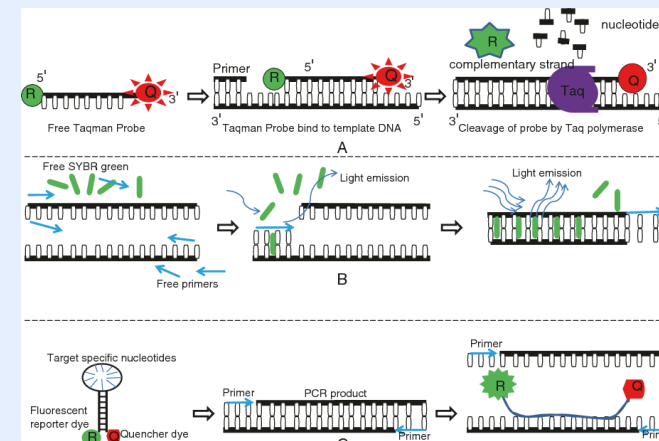
- ✓ Menores costos.
- ✓ Menor capacidad de análisis.

Detección / identificación / caracterización

Identificación o caracterización
por especie



PCR en tiempo real
Multiplexado



Genotipificación

Individual sequences

GAT	A	TTCGTAC	GGA	T
GAT	G	TTCGTAC	TGA	A
GAT	A	TTCGTAC	GGA	T
GAT	A	TTCGTAC	GGA	A
GAT	G	TTCGTAC	TGA	A
GAT	G	TTCGTAC	TGA	A

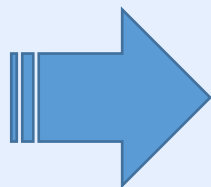
Haplotypes

AGT
GTA
AGA

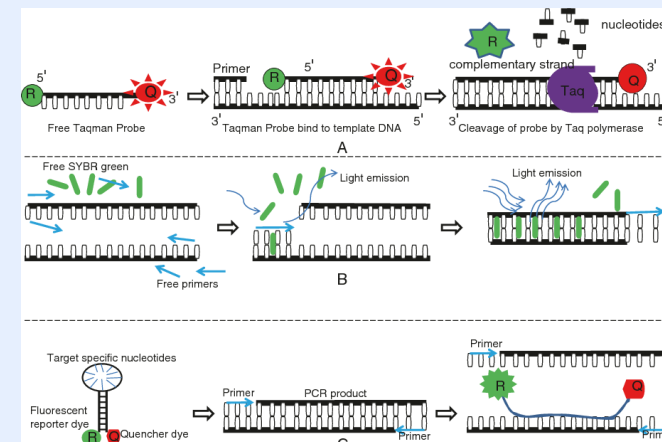
SNPs A/G G/T A/T

Detección / identificación / caracterización

Equipos automatizados para
caracterización genética.



PCR en tiempo real
Multiplexado



Genotipificación

Individual sequences		Haplotypes
	GAT A TTCGTACGGA T T	AGT GTA AGA
	GAT G TTCGTACTGA T T	
	GAT A TTCGTACGGA T T	
	GAT A TTCGTACGGA T T	
	GAT G TTCGTACTGA A T	
	GAT G TTCGTACTGA A T	
SNPs A/G G/T A/T		

Conclusiones

1. Desde que sea ADN, RNA o Proteína y se pueda extraer, conservar y concentrar, se puede detectar, identificar y cuantificar.
2. Al disminuir la escala molecular, se aumenta notoriamente la sensibilidad de la medición.
3. PCR en tiempo real, tiene muchas aplicaciones que con entrenamiento y tiempo de diseño, disminuyen costos por encima del 90%. El método es dimensional.
4. Las soluciones comerciales son útiles y costosas, además que generalmente están asociados a equipos y suministros de marca propia. Se pueden utilizar métodos desarrollados en el laboratorio o basados en protocolos de artículos científicos.
5. No es recomendable delegar la responsabilidad de la calidad de mi método a casas comerciales. Al desarrollar nuestros propios métodos conocemos los reales atributos de detección / identificación / caracterización (FP / FN).

Moraleja de mi experiencia en Biología Molecular

En biología molecular todo es susceptible a empeorar. Cuando falla el método y se revisa uno a uno sus componentes, es mejor dejar así e ir a tomar café.



GRACIAS