

# Citogenética

---

## Manual de Guías de Laboratorio





## ÍNDICE

Visión .....	¡Error! Marcador no definido.
Misión .....	¡Error! Marcador no definido.
ÍNDICE .....	3
MODELO DE INFORME DE PRÁCTICA DE LABORATORIO .....	4
INTRODUCCIÓN .....	5
Práctica N° 1: ESTUDIO DE LA CROMATINA SEXUAL .....	6
Práctica N° 2: INTERPRETACIÓN DEL ESTUDIO DE LA CROMATINA SEXUAL ....	11
Práctica N° 03: PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO CELULAR .....	19
Práctica N° 4: CULTIVO DE CROMOSOMAS - LINFOCITOS .....	25
Práctica N° 5: CULTIVO DE LINFOCITOS: COSECHA Y PREPARADO .....	29
PRÁCTICA N° 6: ANÁLISIS CONVENCIONAL DE CROMOSOMAS .....	¡Error! <b>Marcador no definido.</b>
PRÁCTICA N° 7: TÉCNICAS DE BANDEO CROMOSÓMICO .....	34
PRÁCTICA N° 8: IDENTIFICACION DE CROMOSOMAS CON BANDAS GTG:...	42
PRÁCTICA N° 9: IDENTIFICACIÓN DE CROMOSOMAS CON BANDAS GTG: GRUPOS C, D y E .....	¡Error! Marcador no definido.
PRÁCTICA N°10: IDENTIFICACIÓN DE CROMOSOMAS EN MICROFOTOGRAFÍAS DE CARIOTIPOS NORMALES .....	47
PRÁCTICA N°11: IDENTIFICACIÓN DE CROMOSOMAS EN MICROFOTOGRAFÍAS DE CARIOTIPOS ANORMALES .....	51
PRÁCTICA N°12: SISTEMA DE NOMENCLATURA CROMOSÓMICA .....	57



## MODELO DE INFORME DE PRÁCTICA DE LABORATORIO

- I. Carátula:
  - 1.1 Universidad, Facultad y Escuela Académico Profesional:
  - 1.2 Semestre:
  - 1.3 Título del informe (el de la guía de experimentación)
  - 1.4 Curso: Biología Molecular
  - 1.5 Docente: Mg. Blga. Jessie De La Cruz Lazo
  - 1.6 Estudiante: (nombres y apellidos)
  - 1.7 Fecha de entrega: (según lo acordado con el docente-una semana después de la práctica de laboratorio)
- II. Objetivos (Copie los objetivos de la guía de experimentación)
- III. Fundamento teórico (Complemente el fundamento científico de la guía de experimentación)
- IV. Equipos, materiales y reactivos (Dibuje y coloque el nombre de los equipos, materiales y reactivos, que utilizó durante la experimentación. En su defecto se puede incluir fotografías de los diversos materiales utilizados)
- V. Procedimientos (Explique por escrito y en forma gráfica cada experimento realizado)
- VI. Resultados (Elabore una tabla en la que se especifiquen: el número de experimento, título del experimento y resultados particulares)
- VII. Conclusiones (3 como mínimo)
- VIII. Cuestionario (Estas preguntas se encuentran en la parte final de la guía de experimentación, respóndalas en forma concreta y clara)
- IX. Referencias bibliográficas (en orden alfabético) Ejemplo:  
Karp, G. (2011). Biología Celular y Molecular. Conceptos y experimentos. 6ª ed. México D. F.: Mc Graw Hill.

### EL INFORME DEBE SER:

- Manuscrito
- Grupal
- Entregado en la fecha y hora indicada por el docente, en un fólder manila de color celeste, forrado: fólder de informes de práctica en el laboratorio.
- Preciso
- Ordenado
- Limpio



## INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la ciencia y la tecnología en estos últimos años ha tocado al mundo de las ciencias de la salud. Tanto así que una de las áreas que más se ha desarrollado gracias a los nuevos adelantos tecnológicos es la Genética Humana, en especial la Citogenética.

La escasa bibliografía especializada y textos de consulta en esta área motivo a elaborar la presente GUÍA DE PRÁCTICA DE LABORATORIO que servirá como una guía básica para comprender los principales métodos de estudio citogenético que se realizan en la práctica clínica. El esquema y contenidos de la presente guía están ordenados en función al Programa de la asignatura de Citogenética que forma parte de la currícula del estudiante de la Escuela Académico Profesional de Tecnología Médica en la Especialidad de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica.

Con las prácticas diseñadas en esta guía los estudiantes podrán aprender y adquirir las competencias que les permitan aplicar estas metodologías en un laboratorio de citogenética clínica, así mismo permitirá a los estudiantes tener una formación práctica importante que podrá aplicar en la realización de trabajos de investigación que involucren procedimientos de diagnóstico de las alteraciones cromosómicas numéricas y estructurales que ocurren en un gran número de patologías que aquejan al ser humano.



## GUÍA DE PRÁCTICA

### Práctica N° 1: INTRODUCCIÓN A UN LABORATORIO DE CITOGENÉTICA

Sección: ..... Fecha: .../.../..... Duración: .... minutos  
Nombres y apellidos: .....

**Instrucciones:** En equipos de trabajo los estudiantes desarrollan cada una de las actividades lanteadas, para ello lee las indicaciones con detenimiento para y presenta r un informe de la práctica más el desarrollo de su cuestionario.

1. **PROPÓSITO:** Conocer la importancia del laboratorio e citogenética.

#### 2. **CONCEPTOS BÁSICOS:**

El laboratorio de citogenética es una herramienta importante para el campo de la citogenética, para poder investigar, los trastornos cromosómicos constituyen una categoría importante de enfermedades genéticas, las anomalías cromosómicas representan una gran parte de pacientes con malformaciones congénitas, discapacidad intelectual e infertilidad o aborto habitual.

Para los pacientes con neoplasias malignas hematológicas u oncológicas, las pruebas citogenéticas desempeñan un papel clave en el diagnóstico, el pronóstico, la selección y el seguimiento del tratamiento. A medida que se identifican los marcadores tumorales y se crean los tratamientos dirigidos, los resultados de las pruebas realizadas en el laboratorio de citogenética son una valiosa adición a la información clínica y patológica.

Estudio del ordenamiento de los cromosomas de una célula metafásica de acuerdo a su tamaño y morfología, permitiendo detectar alteraciones numéricas y estructurales, siendo su límite de detección de aproximadamente 5 MB.

#### 3. CUESTIONARIO

- a) Investigue que equipos se require para un laboratorio de citogenética
- b) ¿Cuál es la importancia de la implementación de un laboratorio de Citogenética en un hospital?
- c) ¿Cuál es la importancia de los studios citogenéticos?



## Práctica N°2: ESTUDIO DE LA CROMATINA SEXUAL

Sección: .....

Fecha: ..../..../..... Duración: .... minutos

Nombres y apellidos: .....

**Instrucciones:** En equipos de trabajo los estudiantes desarrollan cada una de las actividades planteadas, para ello lee las indicaciones con detenimiento para y presenta r un informe de la práctica más el desarrollo de su cuestionario.

### 1. PROPÓSITO:

Explica la estructura de la cromatina y diferencia entre euromatina y heterocromatina.

### 2. CONCEPTOS BÁSICOS:

**CROMATINA SEXUAL:** Es bien sabido que las mujeres poseen dos cromosomas X y los hombres solo tienen uno. Durante la mayor parte de este siglo sabemos que el cromosoma X contiene muchos genes codificadores de proteínas importantes. Así, las mujeres tienen dos copias de cada gen ligado al cromosoma X, mientras que los hombres únicamente poseen una copia.

Se sabe desde los comienzos de este siglo que las células masculinas difieren de las femeninas normales por su complemento de cromosomas sexuales, pero no se verificó hasta 1921 con el descubrimiento de una diferencia entre las células masculinas y femeninas, visibles en la interfase. El Dr. Barr de la universidad de Westeer Ontario y su alumno E. G. Bertram, observaron la existencia de una pequeña masa de cromatina, reconocida ya previamente, pero mal interpretada, que se situaba en el núcleo de algunas células nerviosas; esta masa era muy frecuente en las mujeres y en cambio, muy rara en los hombres; se conoce en la actualidad con el nombre de Cuerpo de Barr.

### 3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA:

#### a. Materiales:

- Matraz            250ml
- Probeta           100ml



- Pipetas Volumétricas de 5ml y 10ml
- Pipetas Pasteur de 3 ml
- Frascos color caramelo 100 ml
- Baguetas
- Papel Filtro
- Embudo
- Espátulas

**b. Reactivos**

- Alcohol etílico absoluto            200 ml
- Éter etílico                                100 ml
- Ácido Clorhídrico qp                100 ml
- Fucsina básica                            3g
- Ácido fenico 5%                        200 ml
- Ácido Acético glacial                10 ml
- Formol 40%                                10 ml
- Agua Destilada                        200ml

**c.- Equipos:**

- Balanza Analítica

**4. NOTAS DE SEGURIDAD:** El estudiante no deberá comer, ni beber en las horas prácticas

**5. HIPÓTESIS:** El corpúsculo de Barr es positivo en las mujeres.

**6. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL:**

**TÉCNICA DEL CARBOL FUCSINA:**

**a.- Toma de Muestra:**

Se recomienda que se haga un enjuague bucal, o se haga una higiene bucal utilizando una gasa, previa al momento de toma de muestra.

Utilizando una lámina portaobjetos limpia se hace un raspado de la mucosa oral, y luego se hace un frotis sobre una lámina portaobjetos, evitando retornar la lámina por el mismo





lugar del extendido

**b.- Fijación:**

Una vez tomada, la muestra colocar la lámina en un frasco (Koplins) que contenga al fijador durante 15 minutos como tiempo mínimo, aunque lo podemos dejar por más tiempo (1 semana) sin que la muestra se deteriore.

**c.- Hidrólisis:**

Dejar secar, y luego colocarlo en un frasco (Koplins) que contenga el HCl 5N por un tiempo de 10 segundos o más, dependiendo del tiempo de fijación.

**d.- Lavado:**

Una vez retirada la muestra de la Solución de Hidrólisis, pasar al frasco (Koplins) que contenga Agua Destilada o Agua simple para detener la acción del HCL.

**e.- Coloración:**

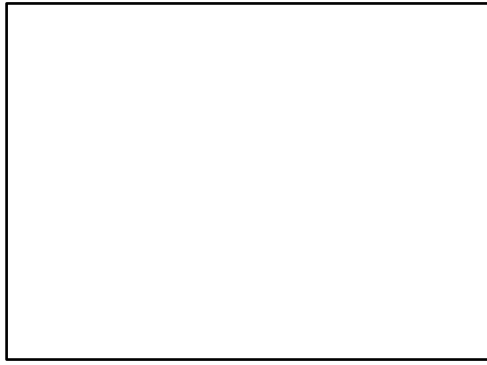
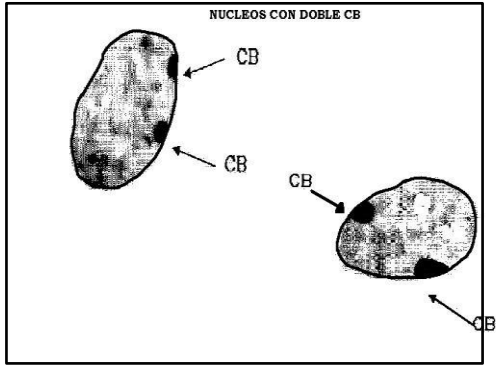
Luego del lavado, la lámina es cubierta por el colorante Carbol Fucsina. El tiempo de coloración dependerá fundamentalmente del grado de madurez y/ o tiempo de preparado el colorante. Tiempo promedio 5 a 10 minutos.

**f.- Decoloración:**

Luego la lámina deberá ser pasada sucesivamente en dos frascos (Koplins) que contenga Alcohol Etílico 70% y Alcohol Etílico 100%, a manera de lavados rápidos.

**g.- Observación al Microscopio:**

Una vez seca la lámina se procede a observar en el microscopio primero con objetivo de 10X para seleccionar el campo a estudiar y luego se pasa a objetivo de 100X para realizar el recuento de corpúsculos de Barr siguiendo un criterio el conteo preestablecido.





## 7. RESULTADOS:

### CRITERIOS PARA EL RECUENTO DE CORPÚSCULOS DE BARR

- Se considera como cromatina X (Corpúsculo de Barr) solamente el corpúsculo Heteropicnótico que se encuentra situada periféricamente y pegado a la cara interna de la membrana nuclear (carioteca).
- Se debe contar solo los núcleos que tengan membrana nuclear completa y cuya cromatina este finalmente distribuida así presente o no el corpúsculo de Barr, para luego sacar el porcentaje de CB observados en la muestra. Para esto se deberá contar no menos de 100 núcleos.
- No entran en el recuento los núcleos que estén superpuestos o plegados.
- No entran en el recuento los núcleos cuya cromatina sea heteropicnótica y distribuida de forma irregular.
- No entran en el recuento los núcleos vacuolizados, ni núcleos que estén contaminados por gérmenes.

**NOTA:** *En el recuento de los CORPÚSCULOS DE BARR no solo se deberá tener en cuenta el número de corpúsculos presentes si no también se deberá poner especial interés en la morfología y el tamaño del corpúsculo. Las formas de corpúsculo pueden ser redondeados, triangulares, trapezoidales, barra, etc. Pero siempre pegados a la membrana nuclear. Se pondrá atención también al tamaño, si es demasiado pequeño o demasiado grande ya que en estos casos se asocian con una delección o isocromosoma del X, que deberá ser necesariamente confirmado con el estudio de cariotipo.*

#### VALORES NORMALES

Mujeres: 20 – 40%



## 8. CONCLUSIONES:

## 9. CUESTIONARIO:

¿Existen Metodologías alternas para la observación del CB, mencione las ventajas y cuál es el tipo de muestra a utilizar?

¿Cuáles son las Hipótesis de Mary Lyon?

¿Cómo se produce la Inactivación molecular del Cromosoma X?

### Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- 1.- Resumen de la evolución de las técnicas de citogenética y genética molecular para la identificación de las alteraciones genéticas del desarrollo embrionario. M.L. Martínez-Fernández, M.D. Sánchez-Izquierdo. *Semergen*.2010;36(9):520–525
- 2.- Robert F. Muller, Ian Young. *EMERY'S GENÉTICA MÉDICA*. Editorial Marban. 2009
- 3.- J. Solari y Col. *GENÉTICA MÉDICA*. Ed. Manual Moderno. 2010.
- 4.- Thompson J. Thompson M. *GENÉTICA MÉDICA*. Ed. Salvat. 2010



## GUÍA DE PRÁCTICA

### Práctica N° 3: INTERPRETACIÓN DEL ESTUDIO DE LA CROMATINA SEXUAL

Sección: ..... Fecha: .... / .... / ..... Duración: .... minutos  
Nombres y apellidos: .....

**Instrucciones:** En equipos de trabajo los estudiantes desarrollan cada una de las actividades planteadas, para ello lee las indicaciones con detenimiento para y presentar un informe de la práctica más el desarrollo de su cuestionario.

#### 1. PROPÓSITO:

Explica la estructura de la cromatina y diferencia entre eucromatina y heterocromatina.

#### 2. CONCEPTOS BÁSICOS:

En 1949 Barr y Bertram descubrieron una masa de cromatina sexual en células en interfase femenina y no masculina que inicialmente las mal denominaron SATELITES DE NUCLEOLO. A esta observación le siguió el desarrollo de una técnica sencilla que permitía detectar los Cuerpos de Barr en células de mucosa oral. Lo que llevo a la conclusión que las mujeres son CB positivas y los varones CB negativos en condiciones normales.

Actualmente se sabe que el corpúsculo de Barr representa uno de los cromosomas X de las células de las hembras, el X que contempla su réplica, más tarde que su homólogo y queda condensado e inactivo genéticamente a lo largo de las interfaces.

En 1959 Ohno, Kaplan y Kinoshita demostraron que la cromatina X corresponde a la condensación de uno solo de los cromosomas X en la mujer. Cuando un cromosoma o parte de este difiere de la mayoría en un ciclo de condensación, se dice que exhibe heteropicnosis, por lo tanto, el cuerpo de Barr es el resultado de la heteropicnosis positiva de un cromosoma X durante la interfase.

La INACTIVACION EL CROMOSOMA X fue explicada en 1961 por Mary Lyon quien detalla lo que se denomina en general "LA HIPÓTESIS DE LYON", basa su hipótesis en parte sobre



observaciones genéticas de los genes ligados al cromosoma X que determinan el color de la piel del ratón y en parte sobre datos citológicos.

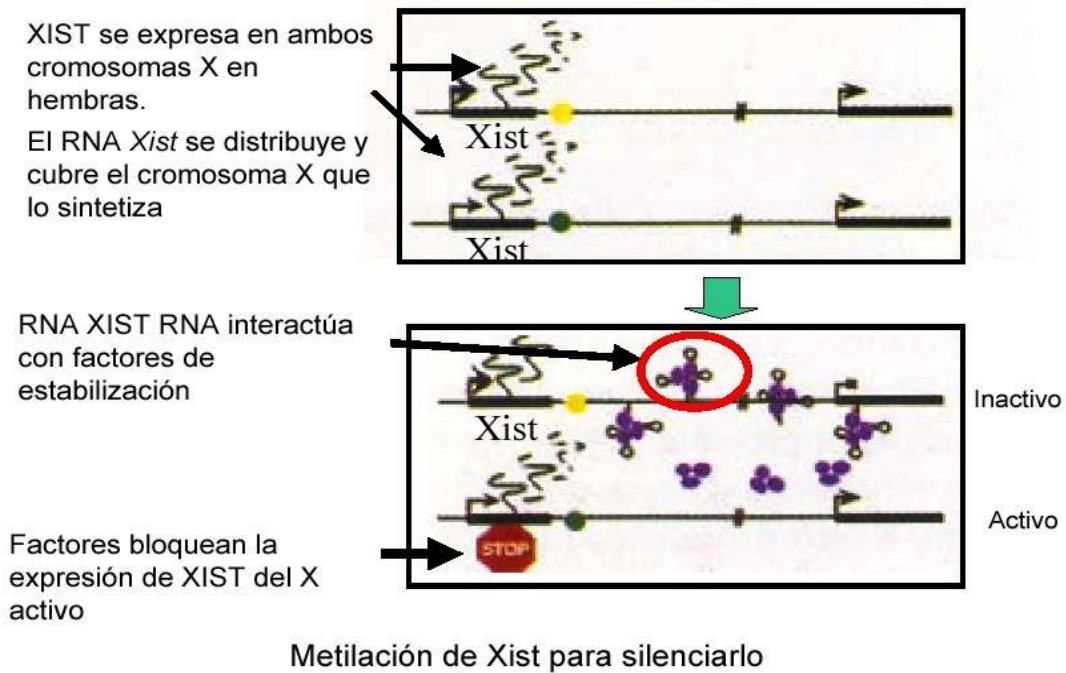
- En las células somáticas de las hembras de los mamíferos, solo un cromosoma X es activo. El segundo cromosoma X está condensado e inactivo y aparece en las células en la interfase como cromatina sexual.
- La inactivación se origina al comienzo de la vida embrionaria (14<sup>avo</sup> día).
- El cromosoma X **INACTIVO** puede ser indistintamente un X paterno o materno (X<sub>p</sub> y X<sub>m</sub>) en células diferentes del mismo individuo; pero una vez inactivado un cromosoma X en una célula, este permanecerá inactivo en todos los descendientes de dicha célula. En otros términos, la inactivación es **ALEATORIA**, pero **FIJA**.

Como consecuencia de la inactivación del cromosoma X, todas las mujeres tienen dos poblaciones distintas de células: una población posee un cromosoma X activo procedente del padre y la otra posee un cromosoma X activo de la madre. Al tener dos poblaciones de células, las mujeres son mosaicos para el cromosoma X.

Aunque la inactivación es aleatoria entre las células que constituyen el embrión, en las células que forman el tejido extraembrionario sólo se inactiva el cromosoma X procedente del padre. Aunque la inactivación del cromosoma X es permanente en todas las células somáticas de la mujer, el cromosoma X inactivo debe reactivarse en la línea germinal de las mujeres, de modo que cada óvulo recibirá una copia activa del Cromosoma.

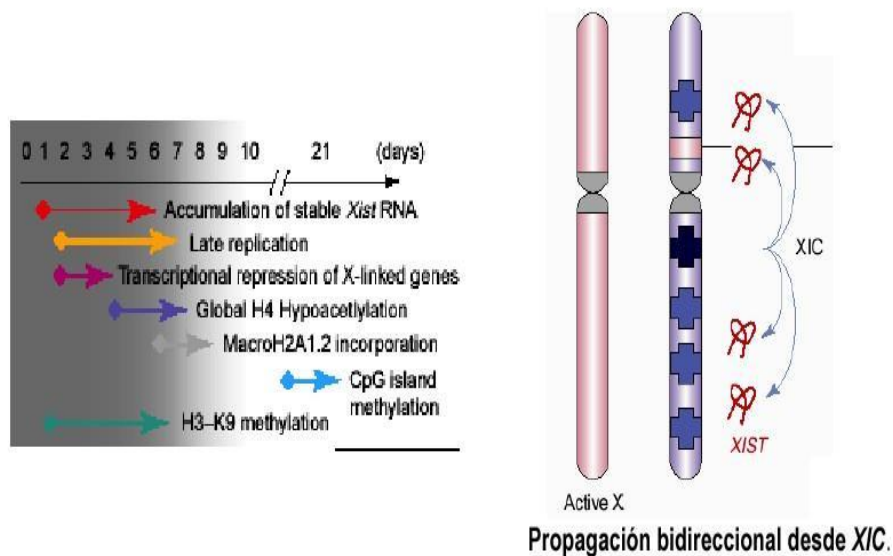
XIST codifica para un RNA de 17kb poliadenilado que no se traduce y es inestable (200 a 1000 / célula). También se transcribe Tsix.

XIST es un gen localizado dentro de una región denominada XIC (Xq13.2). Unos pocos genes del cromosoma X inactivo, 15% permanecen activos, incluyendo el gen XIST.



*Xist* formaría un numero restringido de centros de nucleación.

L1 LINE enriquecido en cromosoma X de Humano y ratón. Lyon propuso que estos L1 LINEs pueden ser elementos propagadores (correlación inversa con genes que escapan inactivación).





### 3. EQUIPOS/ MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA:

#### a.- Materiales

- Puente de coloración
- Embudo de vidrio
- Koplins

#### b.- Reactivos

- Colorante Carbol-Fucsina (solución de trabajo)
- Alcohol- Eter etílico v/v
- HCl 5N
- Alcohol Etílico 96°
- Papel Filtro
- Láminas Portaobjetos
- Marcador de vidrio

#### c.- Equipos

- Microscopio Binocular
- Aceite de inmersión
- Equipo de limpieza de microscopio

**4. NOTAS DE SEGURIDAD:** El estudiante no deberá comer, ni beber en las horas prácticas.

**5. HIPÓTESIS:** El corpúsculo de Barr es positivo en las mujeres.

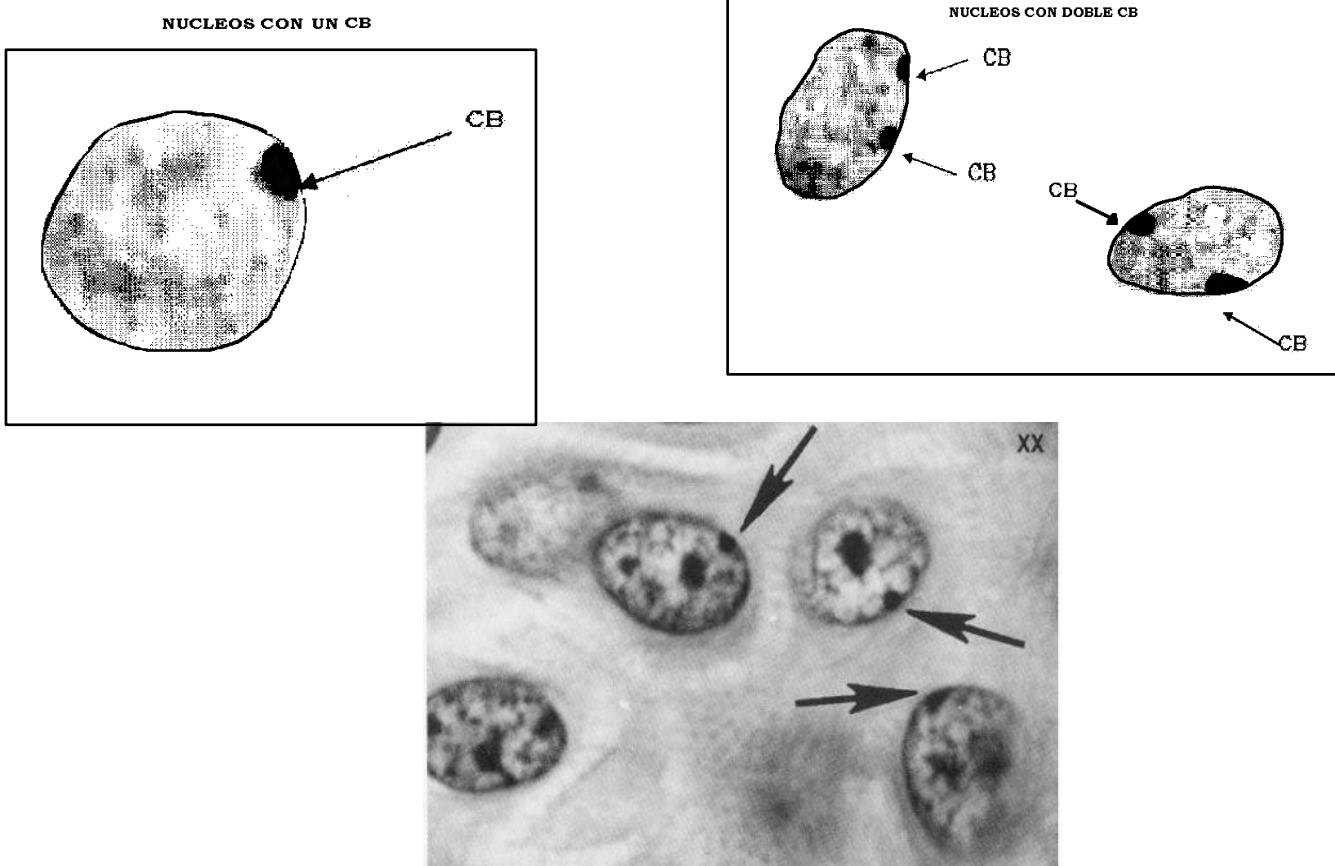
**6. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL:**



### 7. Observación al microscopio:

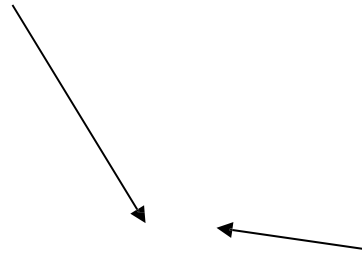
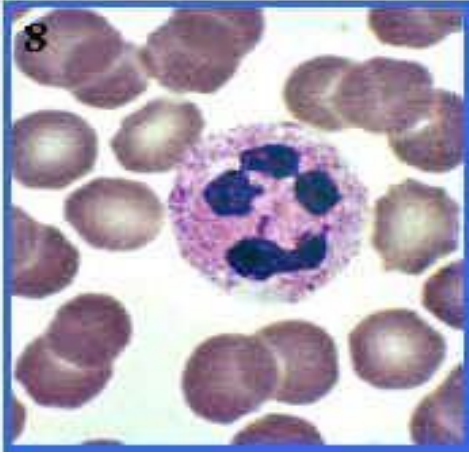
Una vez seca la lámina se procede a observar en el microscopio primero con objetivo de 10X para seleccionar el campo a estudiar y luego se pasa a objetivo de 100X para realizar el recuento de corpúsculos de Barr siguiendo un criterio el conteo preestablecido.

Los corpúsculos de Barr se identificarán como una masa heteropicnótica pegada a la membrana nuclear. Ver esquemas (abajo)



### 8. RESULTADOS:

Podemos observar en el PMN, el de la derecha presenta el corpúsculo CB en la forma de Palillo de Tambor, mientras que el de la izquierda no.





## 9. CONCLUSIONES:

## 10. CUESTIONARIO:

- a. Paciente con fenotipo femenino con corpúsculo barr positivo 12%. Escriba usted el o los probables cariotipos. Así como su Dx. citogenético.
- b. Paciente con fenotipo femenino con corpúsculo barr únicos 25% y corpúsculos barr dobles 15%. Escriba usted el o los probables cariotipos. Así como su Dx. citogenético.
- c. Paciente con fenotipo femenino con corpúsculo barr positivo 10%, pero estos corpúsculos son pequeños. Escriba usted el o los cariotipos probables, así como su diagnóstico citogenético.
- d. Paciente con fenotipo femenino con corpúsculo de barr positivo 28%, pero estos corpúsculos son grandes. Escriba usted el o los cariotipos probables, así como su Dx. citogenético.
- e. Paciente con fenotipo femenino con corpúsculo barr doble 25% y corpúsculo barr triple 22%. Escriba usted el o los cariotipos probables, así como su Dx citogenético.
- f. Recién nacido con genitales ambiguos con corpúsculo barr positivo 30%. Escriba usted el o los probables cariotipos, así como sus Dx citogenético.
- g. Recién nacido con genitales externos femeninos, con ecografía que evidencian testículos, presenta corpúsculo barr negativo. Escriba usted el o los probables cariotipos, así como los Dx. citogenéticos.



- h. Recién nacido con genitales externos masculinos, con ecografía que evidencian ovarios, presenta corpúsculo barr positivo 25%. Escriba usted el o los probables cariotipos, así como los Dx. citogenéticos.
- i. Paciente con fenotipo masculino presenta corpúsculo Barr único positivo 26% pero además presenta doble corpúsculo Y. Escriba usted el o los probables cariotipos, así como los Dx citogenéticos.

**Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados**

- 1.- Resumen de la evolución de las técnicas de citogenética y genética molecular para la identificación de las alteraciones genéticas del desarrollo embrionario. M.L. Martínez-Fernández, M.D. Sánchez-Izquierdo. *Semergen*.2010;36(9):520–525
- 2.- Robert F. Muller, Ian Young. **EMERY'S GENÉTICA MÉDICA**. Editorial Marban. 2009
- 3.- J. Solari y Col. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Manual Moderno. 2010.
- 4.- Thompson J. Thompson M. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Salvat. 2010



## GUÍA DE PRÁCTICA

### Práctica N° 04: PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO CELULAR

Sección: ..... Fecha: .... / ..... / ..... Duración: .... minutos  
Nombres y apellidos: .....

**Instrucciones:** En equipos de trabajo los estudiantes desarrollan cada una de las actividades planteadas, para ello lee las indicaciones con detenimiento para y presentar un informe de la práctica más el desarrollo de su cuestionario.

#### 1. PROPÓSITO:

Discrimina y desarrolla los diferentes métodos de preparación de medios de cultivo celular para el estudio cito genético, su aplicación y utilidad.

#### 2. CONCEPTOS BÁSICOS:

Para el estudio Citogenético (Estudio Cromosómico) es necesario que las células estén en división celular (Mitosis) ya que los cromosomas sólo podrán ser analizados, de acuerdo a su morfología y patrón de bandas, cuando las células estén en el estadio de metafase.

Algunas células de nuestro organismo normalmente pueden estar en un proceso de proliferación y diferenciación por lo que no es necesario estimularlos para que entren en división celular; pero otras células como los linfocitos de sangre periférica como son células ya diferenciadas requieren de un estimulante mitógeno para que entren en mitosis.

#### MEDIOS DE CULTIVO

Los medios de cultivo celular son compuestos que contienen: Aminoácidos, vitaminas y cofactores, enzimas y coenzimas, sales, iones, indicadores de pH. Todo lo necesario para que la célula pueda dividirse in vitro.

Existen distintos medios de cultivo los cuales se seleccionarán dependiendo del tipo de muestra o tipo de célula a cultivar y lograr que estos respondan adecuadamente con un crecimiento celular, así tenemos:



**a. MEDIO McCoy's 5 MODIFIED: Utilizado con más frecuencia para**

- Sangre periférica (Linfocitos).
- Cultivo de Médula Ósea

**b. MEDIO Tc 199: Utilizado en condiciones especiales**

- Deficiencia de ácido fólico.

Para el estudio de Cromosoma X frágil.

- Utilizado también para el cultivo de sangre periférica (Linfocitos).

**c. MEDIO Ham F10 o Ham F12: Utilizado con más frecuencia para:**

- Cultivo de piel.
- Cultivo inicial de líquido amniótico (células fetales)
- Cultivo de tumores (células neoplásicas)

**d. MEDIO RPMI 1640: Utilizado para:**

- Sangre periférica (Linfocitos)
- Cultivo de tumores (células neoplásicas)

**e. MEDIO DE CULTIVO CHANG B + CHANG C: Utilizado para:**

- Cultivo de vellosidades coriales.
- Cultivo de líquido amniótico (células fetales)
- Cultivo de tumores (células neoplásicas)

**f. MEDIO AMNIOMAX: Utilizado para:**

- Cultivo de vellosidades coriales.
- Cultivo de líquido amniótico (células fetales)

**SUPLEMENTOS:**

Además del medio de cultivo base las células requieren para su crecimiento y división celular de suplementos, los cuales serán utilizados dependiendo del tipo de células que se desea cultivar. Así tenemos:



a. SUERO BOVINO FETAL (SBF): Se utiliza a diferentes concentraciones:

- Para el estudio de X frágil al 5%
- Para Cultivo de Sangre Periférica y cultivo de Medula Ósea al 20%.
- Para Cultivo de Líquido Amniótico (células fetales) al 30%.

b. PENICILINA + ESTREPTOMICINA: utilizado como antibiótico para impedir la contaminación bacteriana.

c. FUNGIZONA: Utilizado como antimicótico en caso que fuera necesario.

d. L - GLUTAMINA: Utilizado para mejorar el crecimiento celular.

e. FITOHEMAGLUTININA (PHA): Utilizado solo en caso de cultivo de sangre periférica (linfocitos) como un estimulante mitogénico.

### 3. EQUIPOS Y MATERIALES:

#### a.- Equipos:

- Balanza analítica
- Agitador mecánico
- pH metro

#### b. Materiales:

- Probeta 100 ml
- Matraz 250 ml
- Pipeta de 5 ml y 10 ml
- Bagueta
- Filtro millipore estéril 0,22 micras
- Jeringas de 20 ml
- Jeringas de 10 ml

#### c. Reactivos:

- Colchicina
- Cloruro de Potasio



- Fosfato Monopotásico:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$
- Tripsina 1/250
- Metanol qp
- Ácido Acético Glacial qp
- Medio de Cultivo RPMI 1640 (Gibco Lab)
- Suero Bovino Fetal (Gibco Lab)
- Penicilina + estreptomycin (Gibco Lab)
- L-Glutamina (Gibco Lab.)
- Fitohemaglutinina (Gibco Lab)
- Colorante Giemsa
- Agua destilada
- Alcohol etílico absoluto
- NaOH qp (perlas)

**4. NOTAS DE SEGURIDAD:** El estudiante no deberá comer, ni beber en las horas prácticas

**5. HIPÓTESIS:** Los medios de cultivo requieren de suplementos y factores que favorecen el crecimiento y división de la célula.

**6. PROCEDIMIENTO:**

**PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO:**

Este procedimiento se sigue cuando el Medio de Cultivo base (McCOY'S 5A Modified, RPMI 1640, F10, F12, etc.) está en polvo.

- a. Pesar la cantidad de gramos de medio a preparar. Ejemplo: Preparación del Medio McCOY's 5A Modified. Pesar 12gr Para un volumen de 1000ml.
- b. Disolver lo pesado en el volumen respectivo de agua bidestilada y agitar en un vortex por 10 minutos o agitar manualmente.
- c. Se pesa Bicarbonato de Sodio  $\text{CO}_3\text{HNa}$ . Cada medio de cultivo requiere una cantidad adecuada de  $\text{CO}_3\text{HNa}$ . Ver lista de preparación de reactivos.
- d. Se adiciona el  $\text{CO}_3\text{HNa}$  al frasco y seguir con la agitación.





- e. Se adiciona el Suero Bovino Fetal al medio en la concentración necesaria para cada cultivo. Ej.: Para 1000ml McCOY's se le adiciona 250ml (SBF 20%).
- f. Adicionar al medio 2cc de Penicilina + Estreptomicina por cada 100ml de medio a preparar y continuar con la agitación por 5 minutos.
- g. Ajustar el pH del medio a  $7.0 \pm 0.2$  utilizando HCl 1N o OHNa 1N. Generalmente se utilizan los medios a este pH, pero en algunos casos como cultivo de células fetales (LA) se usa pH ácido  $6.0 \pm 0.2$ .
- h. Para el caso de cultivo de Sangre (linfocitos) se adicionará la PHA tipo M en proporción de 2cc/100ml de medio preparado. Se recomienda adicionar la PHA después de esterilizado el medio y en el momento de su uso.
- i. La esterilización del Medio de Cultivo: Se realiza solamente por filtración al vacío utilizando Filtros Millipore de  $0.22\mu\text{m}$ .
- j. Control de Esterilidad: Una vez filtrado todo el medio se recomienda alicuotar en frascos de 50ml o 100ml y se controla la esterilidad colocando los frascos en estufa a  $37^{\circ}\text{C}$  por 24 a 48hrs. NOTA: Si el Medio cambia de color (amarillo) o se observa una turbidez o flóculos es mejor desechar los frascos porque probablemente están contaminados.
- k. Finalmente, los medios de cultivo se guardan en congelación a  $-4.0$  o  $-20.0$  hasta su uso.

## **7. RESULTADOS**

- Los medios de cultivo, reactivos y colorantes deberán prepararse de acuerdo a como esté indicado para cada tipo de cultivo.
- Se deberá realizar la siembra con la mayor esterilidad posible.
- No deberán ser modificados los tiempos o rangos de centrifugación ni las temperaturas incubación inadecuadamente.
- Deberá tenerse en cuenta que son muchas las causas que interfieren con el normal desarrollo de la mitosis y que incluso producen alteraciones cromosómicas. Estos agentes interferentes pueden ser de naturaleza física como los rayos X, la Luz Ultravioleta, cambios bruscos de temperatura, campo magnético u ondas sonoras.



## 8. CONCLUSIONES:

## 9. CUESTIONARIO:

- ¿Qué otros inhibidores mitóticos se pueden utilizar en el cultivo de linfocitos?
- ¿Qué otros estimulantes mitogénicos se pueden utilizar en el cultivo de linfocitos?
- ¿Cómo actúan específicamente los estimulantes mitogénicos?
- ¿Qué otras soluciones hipotónicas se pueden utilizar en el cultivo de células para el estudio cromosómico?

### Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- 1.- Resumen de la evolución de las técnicas de citogenética y genética molecular para la identificación de las alteraciones genéticas del desarrollo embrionario. M.L. Martínez-Fernández, M.D. Sánchez-Izquierdo. *Semergen*.2010;36(9):520-525
- 2.- Robert F. Muller, Ian Young. **EMERY'S GENÉTICA MÉDICA**. Editorial Marban. 2009
- 3.- J. Solari y Col. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Manual Moderno. 2010.
- 4.- Thompson J. Thompson M. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Salvat. 2010
- 5.- Estudio del cariotipo humano. Aplicación en la vida prenatal y postnatal en una clínica de reproducción asistida. Tesis para optar Título Bióloga. María de Jesús Gaytán García. UNAM.México. 2009



## GUÍA DE PRÁCTICA

### Práctica N° 5: CULTIVO DE CROMOSOMAS - LINFOCITOS

Sección: .....

Fecha: .../.../..... Duración: .... minutos

Nombres y apellidos: .....

**Instrucciones:** En equipos de trabajo los estudiantes desarrollan cada una de las actividades planteadas, para ello lee las indicaciones con detenimiento para y presentar un informe de la práctica más el desarrollo de su cuestionario.

#### 1. PROPÓSITO:

Desarrolla la técnica de cultivo de linfocitos para obtener los cromosomas metafísicos humanos, realiza la preparación de cromosomas metafísicos.

#### 2. CONCEPTOS BÁSICOS:

Una de las alteraciones genéticas frecuentes, se debe a un defecto en los cromosomas ya sea por una alteración del número o una alteración en su estructura (deleciones, translocaciones, inserciones, etc.); esta causa de alteración genética motivó a los investigadores a desarrollar técnicas de cultivo que permitieran el estudio de los cromosomas. Así desde la década del 50 se desarrollaron técnicas de cultivo celular lo cual permitió a Soe Thio y Albert Levan en 1956 demostrar una preparación a través del cual se podía observar separadamente cada uno de los cromosomas. Este descubrimiento hizo posible hacer el recuento del número de cromosomas y estudiar su configuración individual. Como resultado de estas investigaciones se concluyó que el humano tenía un número diploide de cromosomas, (46) puesto que antes se consideraba que eran 48 cromosomas. Esta observación fue confirmada por Ford y Hamerton.

Más tarde reportes de otros investigadores presentaron técnicas que aumentaban grandemente la fineza de la preparación de los cromosomas. Un ejemplo de estos hallazgos es la adición de Phitohemaglutinina (PHA) en el medio de cultivo celular. La



PHA es un extracto salino de un tipo de frijol rojo llamado Phaseolus vulgaris. La PHA fue originalmente utilizada dentro de su capacidad para producir hemoaglutinación. Más tarde, Nowell descubrió su propiedad mitógena.

Para el estudio Citogenético es necesario que las células estén en división celular (Mitosis) ya que los cromosomas sólo podrán ser analizados, de acuerdo a su morfología y patrón de bandas, cuando las células estén en el estadio de metafase.

Por ello aprenderemos la metodología para la obtención de metafases a partir de un Cultivo de Sangre Periférica (Linfocitos), para luego hacer la observación directa de los cromosomas

### **3. MATERIALES Y EQUIPOS**

#### **a.- Equipos:**

- Cámara de Flujo Laminar
- Mechero de Bunsen

#### **b. Materiales:**

- Pipeta estéril de 5 ml y 10 ml
- Jeringas de 5 ml
- Jeringas de 10 ml
- Jeringa de 1 ml
- Agujas descartables 21 X 1"
- Ligadura
- Gradillas de tubos
- Tubos Estériles Falcon de 15 ml
- Frascos de cultivo estéril Falcon de 50 ml 1

#### **c. Reactivos:**

- Medio PB- Max Karyotyping Medium
- Medio RPMI Completo
- Suero Bovino Fetal
- Fitohemaglutinina



- Alcohol etílico absoluto
- Algodón
- Heparina sódica 2,500 UI

**4. NOTAS DE SEGURIDAD:** El estudiante no deberá comer, ni beber en las horas prácticas.

**5. HIPÓTESIS:** La citogenética requiere que las células estén en división celular para el estudio de los cromosomas.

**6. PROCEDIMIENTOS:**

**TOMA DE LA MUESTRA:**

Se obtiene 5ml de sangre venosa teniendo en cuenta todas las medidas de bioseguridad, con una jeringa previamente cargada con 0.1 ml de heparina sódica.

Tomada la muestra se deja la jeringa en posición vertical con la aguja hacia abajo el tiempo necesario para que sedimente el paquete globular.

**SIEMBRA DE LA MUESTRA:**

Se elimina el paquete globular de la jeringa, dejándose la interfase entre el paquete globular y el plasma, donde se encuentra la mayor cantidad de glóbulos blancos que se utilizaran para la siembra.

Se adiciona al frasco de cultivo 1 a 1.5ml de la muestra (plasma + elementos celulares). Mezclar suavemente y cerrar herméticamente el frasco de cultivo. Se deja en incubación en una estufa a 37°C por 72 horas. Todo el procedimiento de la siembra se debe realizar en absoluta esterilidad, diariamente se debe de mezclar el frasco de cultivo y observar si hay cambios de color del medio o turbidez que nos indicaría una probable contaminación.

**7. RESULTADOS:**

Los cultivos luego de la siembra e incubación deberán permitir un crecimiento adecuado de los linfocitos. La división celular de los linfocitos puede ser evaluada subjetivamente por el cambio de color del medio (ligeramente amarillo) por cambio de pH del medio.



## 8. CONCLUSIONES

## 9. CUESTIONARIO:

- 1.- ¿Qué pasaría si las muestras son tomadas con otro anticoagulante (EDTA, Citrato, Oxalato, Etc.)? ¿Por qué?
- 2.- ¿Cómo se debe transportar o enviar las muestras a los laboratorios de citogenética si están a distancias de 24 o 48 horas?
- 3.- ¿Qué pasaría si los cultivos se cosechan a las 24 o 48 horas de la siembra?

### Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- 1.- Resumen de la evolución de las técnicas de citogenética y genética molecular para la identificación de las alteraciones genéticas del desarrollo embrionario. M.L. Martínez-Fernández, M.D. Sánchez-Izquierdo. *Semergen*.2010;36(9):520–525
- 2.- Robert F. Muller, Ian Young. **EMERY'S GENÉTICA MÉDICA**. Editorial Marban. 2009
- 3.- J. Solari y Col. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Manual Moderno. 2010.
- 4.- Thompson J. Thompson M. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Salvat. 2010
- 5.- Estudio del cariotipo humano. Aplicación en la vida prenatal y postnatal en una clínica de reproducción asistida. Tesis para optar Título Bióloga. María de Jesús Gaytán García. UNAM.México. 2009



## GUÍA DE PRÁCTICA

### Práctica N° 6: CULTIVO DE LINFOCITOS: COSECHA Y PREPARADO DE EXTENDIDOS

Sección: .....

Fecha: .../.../..... Duración: .... minutos

Nombres y apellidos: .....

**Instrucciones:** En equipos de trabajo los estudiantes desarrollan cada una de las actividades planteadas, para ello lee las indicaciones con detenimiento para y presentar un informe de la práctica más el desarrollo de su cuestionario.

#### 1. PROPÓSITO:

Adquirir conocimientos sobre el manejo de técnicas citogenéticas que les puedan servir para la identificación y diferenciación cromosómica; e integrarse en los grupos de investigación de servicios de genética en hospitales, institutos de investigación, salud pública, Etc.

#### 2. CONCEPTOS BÁSICOS:

En estos cultivos las células crecen libres en el medio (en suspensión), sin adherirse a las paredes del recipiente en que se encuentran. Las condiciones de cultivo varían de acuerdo al tipo de anomalía sospechada y a las características que se deseen observar. Se pueden utilizar diferentes clases de medio, los más apropiados incluyen: RPMI 1640, Medio Esencial Mínimo (MEM) y medio TC 199; a los cuales se les adiciona suero fetal bovino (SFB) inactivado, que proporciona enriquecimiento al medio; como estimulante mitogénico se adiciona fitohemaglutinina (PHA).

En presencia de la PHA, los linfocitos pequeños se transforman en células indiferenciadas grandes, denominadas blásticas, que tienen núcleo redondo uno o dos nucleolos, citoplasma basófilo y entran en la primera mitosis a las 48 horas de cultivo.

Otro hallazgo fue el uso de Colchicina, una sustancia derivada del Autumn crocus que tiene un efecto específico de inhibición mitótica deteniendo la división en el estado de metafase. Esto permite la acumulación de células en metafase en el cultivo. Hughes y Hsu reportaron que el pre-tratamiento de las células en mitosis con una solución hipotónica causaba la absorción de líquido y el



hinchamiento de la célula, facilitando la separación de los cromosomas. Moorehead y colaboradores fueron los primeros en describir el método del cultivo de linfocitos de sangre periférica.

### 3: EQUIPOS Y MATERIALES:

#### a.- Equipos:

- Centrifuga de tubos
- Estufa a 37°C
- Baño María
- Vortex
- Refrigeradora

#### b. Materiales:

- Pipeta pasteur de vidrio de 3 ml
- Pipetas de 5 ml
- Propipetas
- Micropipeta de 10-100 ul
- Puntas amarillas
- Gradillas de tubos

#### c. Reactivos:

- Metanol absoluto qp
- Ácido Acético Glacial qp
- Cloruro de Potasio
- Colchicina

**4. NOTAS DE SEGURIDAD:** El estudiante no deberá comer, ni beber en las horas prácticas.

**5. HIPÓTESIS:** La identificación y diferenciación cromosómica se realiza en etapas de la metafase.





## 6. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL:

### COSECHA DE LA MUESTRA:

1.- Cumplida las 72 horas se saca el frasco de cultivo de la estufa y se agregan 100µl de Colchicina al 0.1µgr/ml. Mezclar suavemente e incubar en estufa a 37°C por 50 minutos.

2.- Centrifugar a 1000rpm por 10min. Luego utilizando una pipeta Pasteur, decantar o eliminar el sobrenadante y homogenizar el sedimento o Pellet.

3.- Luego agregar 6ml de Cloruro de Potasio 0.075M (solución Hipotónica) y agitar bien el Pellet usando la pipeta Pasteur por 2 ó 3 minutos. Se colocará el tubo en la estufa a 37°C durante 10 minutos.

**NOTA:** El tiempo de exposición en la solución Hipotónica no deberá exceder en ningún caso más de 15 minutos.

4.- Sacar el tubo de la estufa y agregar de 5 a 8 gotas de fijador Carnoy (recién preparado), para detener la acción de la solución Hipotónica. Mezclar suavemente usando una pipeta Pasteur.

5.-Luego se centrifuga a 1000rpm por 10min. Utilizando una pipeta Pasteur eliminar el sobrenadante y resuspender el Pellet. Agregar 5ml de fijador Carnoy, el 1er ml agregarlo gota a gota, el resto puede hacerse más rápido.

6.-Utilizando una pipeta Pasteur agite y deje fijándolo por 30 minutos a T° ambiente. **NOTA:** En este paso puede dejarse fijando el cultivo por 24h (o más tiempo si fuera necesario) a T° de refrigeración. Luego se centrifuga a 1000rpm por 10min y se procede con los siguientes pasos.

7.-Eliminar el sobrenadante y resuspender el Pellet usando una pipeta Pasteur. Se adicionará 5ml de fijador y nuevamente centrifugar a 1000 RPM. Se repite este paso 3 veces a manera de lavados con fijador.

8.-El Pellet obtenido finalmente se debe resuspender con 1 a 2 ml. de fijador (esta cantidad puede variar dependiendo de la cantidad de Pellet) hasta obtener una suspensión opalescente.



### **PREPARACIÓN DE LÁMINAS:**

Las láminas portaobjetos son limpiadas previamente con una mezcla de alcohol y acetona, se almacenarán en la nevera hasta el momento de su empleo

La preparación de las láminas se obtiene añadiendo 3 ó 4 gotas de la suspensión final sobre las láminas portaobjetos a una distancia de 20 a 30cm de altura y soplar para obtener un extendido homogéneo. Secar la lámina usando un mechero de alcohol.

### **7. RESULTADOS:**

#### **COLORACIÓN Y OBSERVACIÓN DE LÁMINAS:**

- Se prepara la solución colorante de Giemsa al 4% en un Koplins.
- Se introducen las láminas y dejarlo por espacio de 6 minutos.
- Enjuagar con agua destilada y secarlo usando papel filtro.

La metafase seleccionada deberá ser una metafase aislada y que presente los cromosomas separados, no sobrepuestos, para lograr una fácil visualización

### **8. CONCLUSIONES:**



## 9. CUESTIONARIO:

¿Qué sucederá si nuestra muestra es incubada por más de 15 minutos (30 minutos o más) con la Solución Hipotónica?

¿Qué sucederá si nuestra muestra es incubada por más tiempo (1h30m o más) o menos tiempo (15 a 30 minutos) con la colchicina?

### Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- 1.- Resumen de la evolución de las técnicas de citogenética y genética molecular para la identificación de las alteraciones genéticas del desarrollo embrionario. M.L. Martínez-Fernández, M.D. Sánchez-Izquierdo. *Semergen*.2010;36(9):520–525
- 2.- Robert F. Muller, Ian Young. **EMERY'S GENÉTICA MÉDICA**. Editorial Marban. 2009
- 3.- J. Solari y Col. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Manual Moderno. 2010.
- 4.- Thompson J. Thompson M. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Salvat. 2010
- 5.- Estudio del cariotipo humano. Aplicación en la vida prenatal y postnatal en una clínica de reproducción asistida. Tesis para optar Título Bióloga. María de Jesús Gaytán García. UNAM.México. 2009



## GUÍA DE PRÁCTICA

### PRÁCTICA N° 7: TÉCNICAS DE BANDEO CROMOSÓMICO

Sección: .....

Fecha: .../.../..... Duración: .... minutos

Nombres y apellidos: .....

**Instrucciones:** En equipos de trabajo los estudiantes desarrollan cada una de las actividades planteadas, para ello lee las indicaciones con detenimiento para y presentar un informe de la práctica más el desarrollo de su cuestionario.

#### 1. PROPÓSITO:

Identificar y diferenciar las técnicas de bandeo cromosómico.

#### 2. CONCEPTOS BÁSICOS:

Hasta antes del año de 1970 no era posible estudiar los cromosomas bandeados sino sólo de manera convencional. Pero en la actualidad se conocen varias técnicas de bandeo cromosómico que permiten identificar individualmente los cromosomas, lo cual facilita la identificación de una alteración cromosómica numérica y especialmente demostrar la presencia de alteraciones cromosómicas estructurales.

#### 3. MATERIALES Y

##### EQUIPOS a.-

##### Equipos:

- Microscopios con objetivo 100X
- Baño María
- Estufa incubadora 37°C
- pH metro
- Refrigeradora

##### b.- Materiales:

- Pipeta estéril de 5 ml y 10 ml
- Propipetas



- Probeta de 50 ml
- Aceite de inmersión
- Material de limpieza de microscopios
- Koplins de vidrio o plástico
- Gradilla de láminas de plástico o metal

**c. Reactivos:**

- $\text{KH}_2\text{P}_04$  (Fosfato monopotásico)
- $\text{NaOH}$  (hidróxido de sodio) qp (perlas)
- Indicador de pH
- Solucion Salina Fisiológica  $\text{ClNa}$  0.9%
- Agua destilada
- Colorante Giemsa

**4. NOTAS DE SEGURIDAD:** El estudiante no deberá comer, ni beber en las horas prácticas.

**5. HIPÓTESIS:** La identificación y diferenciación de las técnicas de bandeo cromosómico se realiza en etapas de la metafase.

**6. PROCEDIMIENTO:**

**6.1. TECNICA DE BANDAS Q:**

Primera metodología utilizada, desarrollada por Casperson, en 1970 quien utilizo mostaza de quinacrina para luego observar la distinta emisión de fluorescencia cuando eran observados en el microscopio de fluorescencia (utilizando luz ultravioleta). Este método fue posteriormente denominado como las técnicas de bandas Q (Paris, Conferencia de 1971).

Esta metodología tiene como principal desventaja que la fluorescencia desaparece progresivamente por lo que la observación y análisis cromosómico así como la toma de microfotografía debe ser lo más rápido posible.



Las bandas obtenidas con esta técnica son características para cada cromosoma; pero tienen mayor utilidad para demostrar la porción distal del brazo largo del **cromosoma Y**, que se tiñe más intensamente que los demás cromosomas. Las regiones pericentroméricas de los cromosomas 3 y 4, y las regiones satélites y pericentroméricas de los cromosomas acrocéntricos muestran variaciones significativas conocidos como **Polimorfismos** o **Heteromorfismos**, que pueden ser demostrados con esta técnica.

**Soluciones:**

1. Buffer Sorensen's a pH 5.6
2. Colorante Dihidrocloruro de Quinacrina al 1%

**Procedimiento:**

1. Se tiñen las láminas con el Colorante de Quinacrina por 15 - 20 minutos en oscuridad.
2. Se lavan las láminas con el Buffer Sorensen's.
3. Se monta con una laminilla cubreobjetos con el Buffer.

Examinar al microscopio de fluorescencia utilizando una luz de longitud de onda de 450 – 550nm

**6.2. TÉCNICA DE BANDAS G:**

Es la más utilizada en los Laboratorios de Citogenética para el análisis rutinario de los cromosomas, esta técnica es descrita o conocida como GTG (Bandas G por tripsina usando Giemsa).

Un rol directo de la tinción con Giemsa es producir bandas G (Mc Kay, 1973; Shuh et al, 1975). Clark y sus colegas (Clark y Felsenfeld, 1975) sugirieron que las Histonas ricas en argininas están involucradas en las bandas GTG y no tanto la pérdida de DNA y las proteínas de los cromosomas, durante el tratamiento con la tripsina. Esta hipótesis que diferencia entre bandas G positivas (oscuras) y bandas G negativas (claras) puede ser debido a la distribución de las proteínas cromosómicas y el DNA. También se ha sugerido que las bandas G positivas son relativamente ricas en proteínas disulfuro, mientras que las bandas



G negativas contienen sulfhidrilos.

**Soluciones:**

1. Solución Tripsina 1%
2. Solución Salina Fisiológica
3. Colorante Giemsa 4%

**Procedimientos:**

1. Se coloca en Baño María a 37°C el frasco Nro 1 de Solución de tripsina 1% (5ml de Tripsina + 22.5 Buffer Fosfato + 22.5m de SSF).
2. Se colocan las láminas con la preparación cromosómica (menos de 1 semana) en el frasco Nro 1 por 10 segundos.
3. Se enjuaga las láminas en el frasco Nro 2 de Solución salina fisiológica.
4. Se colocan las láminas en el frasco Nro 3 de Colorante Giemsa 4% por 10 minutos.
5. Lavar con agua corriente y Examinar al microscopio





### **6.3. TÉCNICA DE BANDAS R:**

El principio básico de esta técnica es el tratamiento de las láminas a altas temperaturas en varios buffer, seguido por la tinción con Acridina Orange (RFA) o en Giemsa (RHG, bandas R, por calor usando Giemsa). Las bandas que produce esta técnica en los cromosomas humanos son el reverso de las bandas G o bandas Q, es decir que las bandas claras en Q o G son bandas oscuras en R y viceversa. (Dutrillanx and Lejeune 1971; Sehested, 1974; Bobrow and Madan, 1973).

Una de las más importantes ventajas de la Técnica de bandas R, es que las regiones teloméricas de los cromosomas son teñidas, a diferencia de las Técnicas bandas Q y G en las que no son tan claras. El mecanismo de las bandas reversas no está totalmente conocido. (Comings 1978).

El tratamiento con calor induce desnaturalización de las proteínas cromosómicas así como de las secuencias del DNA ricas en nucleótidos A-T, mientras que el DNA rico en G-C de las bandas R en una configuración nativa (SUMMER 1982). Comings (1978) detalla que a temperaturas altas el DNA rico en A-T de las bandas G es denaturada y parcialmente extraída mientras que el DNA nativo de las bandas R no lo es.

### **6.4. TÉCNICA DE BANDAS C:**

La técnica de bandas C produce una tinción selectiva de la Heterocromatina constitutiva. Estas bandas están localizadas en la región pericentromérica de los cromosomas humanos.

El método original descrito por Arrighi y Hsu (1971) involucra primero un tratamiento con álcali, (OH)Na, para denaturar el DNA Cromosómico y subsiguiente incubación en una Solución Salina. Posteriormente se describe un método por SUMMER (1972) en la que el álcali usado es el (OH)<sub>2</sub>Ba. Ambos métodos producen un patrón característico similar de bandas C.

El tratamiento de desnaturalización con el álcali (OH)<sub>2</sub>Ba es crítico y debe ser óptimo para obtener mejor calidad bandas C. La duración del tratamiento depende de la edad



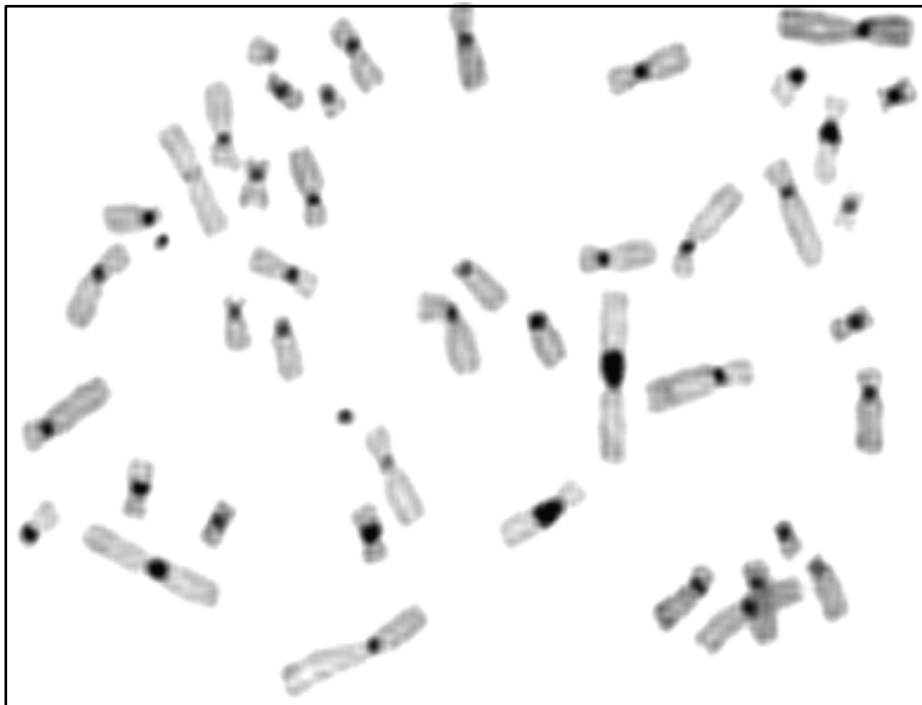


(vejez) de la preparación cromosómica y del tejido de origen. Un tratamiento inadecuado con álcali produce una pobre diferenciación de bandas C, mientras que un tratamiento excesivo resulta en la pérdida de la morfología cromosómica.

Las bandas C requieren de dos pasos sucesivos para la pérdida del DNA cromosómico, primero una depurinación y denaturación sucesiva durante el tratamiento con un ácido (HCl) y un álcali ( $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ). La denaturación del DNA es seguida de una remoción de los pequeños fragmentos y eliminación de ellos durante la incubación en la solución 2xSSC.

La principal aplicación de la técnica de bandas C es para demostrar la variación de tamaño de la región de Heterocromatina Constitutiva presente en las regiones pericentromérica de los cromosomas, en especial de los cromosomas 1, 9, 16 y los brazos largos del cromosoma Y. Estas variaciones constituyen los llamados Polimorfismos. Además esta técnica es útil para demostrar la presencia de una inversión pericentromérica.

### **Bandas C**

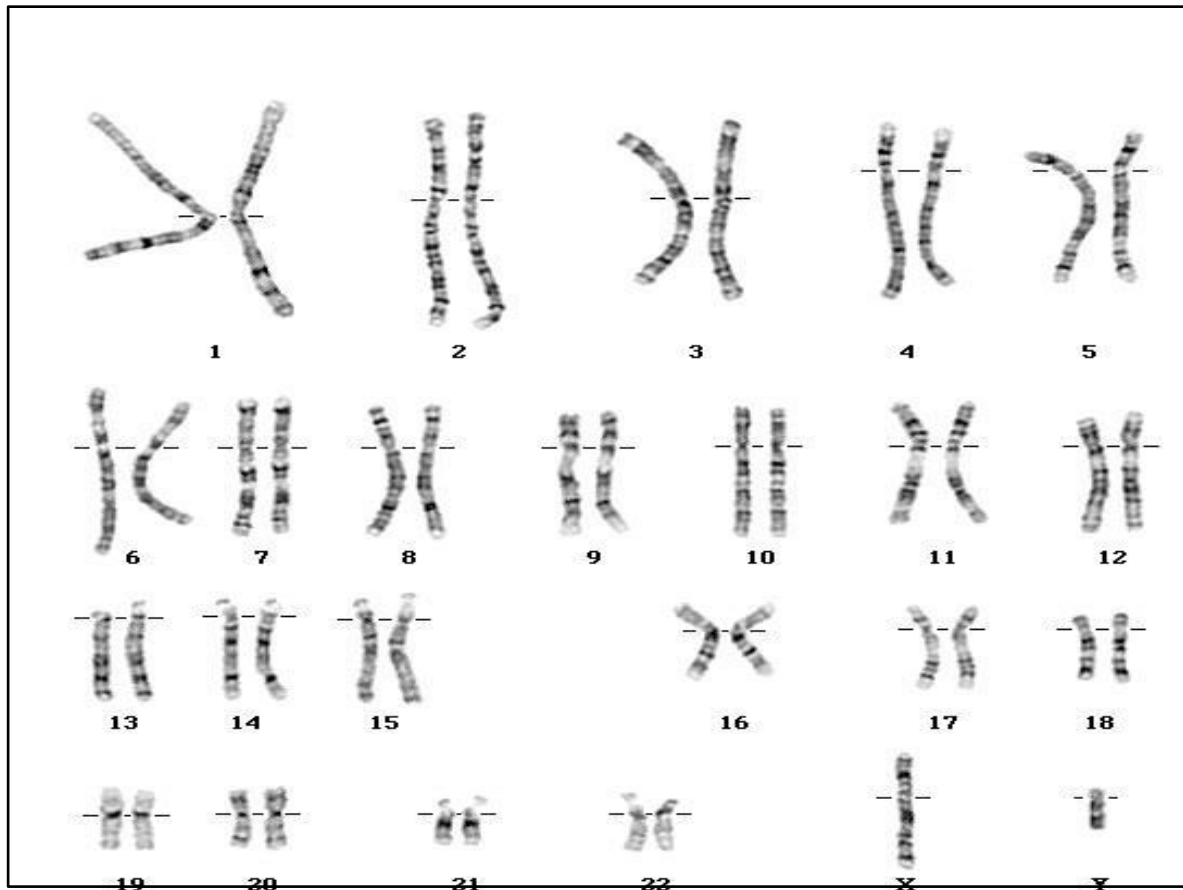




### 7. RESULTADOS:

Se observan los cromosomas bandeados de acuerdo a un patrón de bandas claras y oscuras característico de cada uno de los cromosomas que permitirán su identificación.

Ver figura abajo:



8. C  
ONCL  
USIO  
NES:



## 9. CUESTIONARIO:

1.- Revisión del patrón de Bandas GTG de los Cromosomas Humanos 2.-

Encuentre 5 diferencias entre las bandas G y las bandas R

3.- Qué técnica de bandeado cromosómico aplicaría para evaluar las deleciones teloméricas, los polimorfismos cromosómicos y las regiones NOR.

### Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- 1.- Martínez ML, Sánchez MD. Resumen de la evolución de las técnicas de citogenética y genética molecular para la identificación de las alteraciones genéticas del desarrollo embrionario. *Semergen* 2010; 36(9):520–525
- 2.- Robert F, Muller Lan Young. **EMERY'S GENÉTICA MÉDICA**. Editorial Marban. 2009
- 3.- Solari J, et al. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Manual Moderno. 2010.
- 4.- Thompson J, Thompson M. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Salvat. 2010
- 5.- Gaytán MJ. Estudio del cariotipo humano. Aplicación en la vida prenatal y postnatal en una clínica de reproducción asistida. Tesis para optar Título Bióloga. UNAM. México. 2009
- 6.- Serre JL. **DIAGNOSTIC TECHNIQUES IN GENETICS**. Wiley-Liss. 2009



## GUÍA DE PRÁCTICA

### PRÁCTICA N° 8: IDENTIFICACIÓN DE CROMOSOMAS CON BANDAS GTG

Sección: ..... Fecha: ..../...../..... Duración: .... minutos  
Nombres y apellidos: .....

**Instrucciones:** En equipos de trabajo los estudiantes desarrollan cada una de las actividades planteadas, para ello lee las indicaciones con detenimiento para y presentar un informe de la práctica más el desarrollo de su cuestionario.

#### 1. PROPÓSITO:

Identificar los cromosomas con bandas GTG: grupos A, B, C, D, E, F y G.

#### 2. CONCEPTOS BÁSICOS:

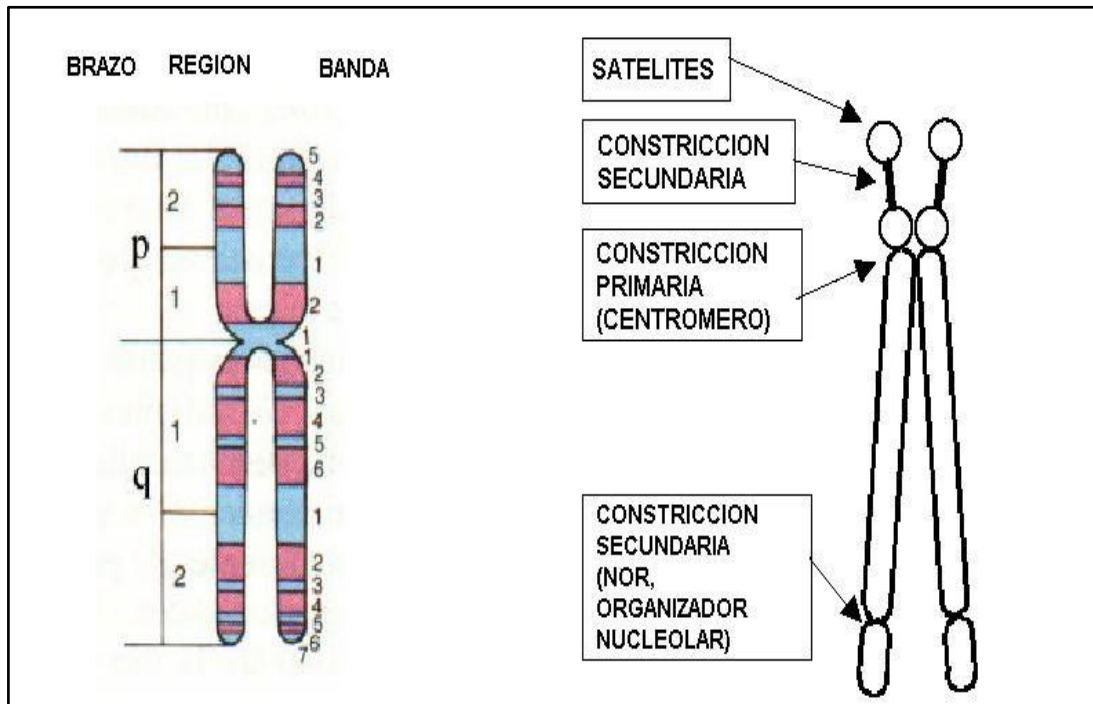
Los cromosomas cambian ligeramente de forma según la etapa de la división celular; son más alargados en profase y alcanzan el máximo de condensación en la metafase; por lo cual es el momento ideal para observarlos.

En esa etapa podemos observar que cada cromosoma tiene una zona que es como una constricción, y se llama el centrómero (constricción primaria). El centrómero determina en el cromosoma los brazos cortos (p) y los brazos largos (q).

Según la posición del centrómero, los cromosomas se clasifican en:

- **Metacéntricos:** el centrómero se localiza a mitad del cromosoma y los dos brazos presentan igual longitud.
- **Submetacéntricos:** la longitud de un brazo del cromosoma es algo mayor que la del otro.
- **Acrocéntrico:** un brazo es muy corto (p) y el otro largo (q).
- **Telocéntrico:** sólo se aprecia un brazo del cromosoma al estar el centrómero en el extremo (este tipo de cromosomas no se encuentran en el cariotipo humano).

Los pares cromosómicos se ordenan de forma decreciente de tamaño, y luego se clasifican en grupos, de acuerdo al tamaño y a la ubicación del centrómero. Estos grupos se nombran con las letras: A, B, C, D, E, F, G. La representación ordenada de los cromosomas constituye el cariotipo.



**Grupo A: Metacéntricos grandes.** Cromosomas 1, 2, 3, excepto el 2, el cual es un cromosoma submetacéntrico grande.

**Grupo B: Submetacéntricos grandes.** Cromosomas 4 y 5.

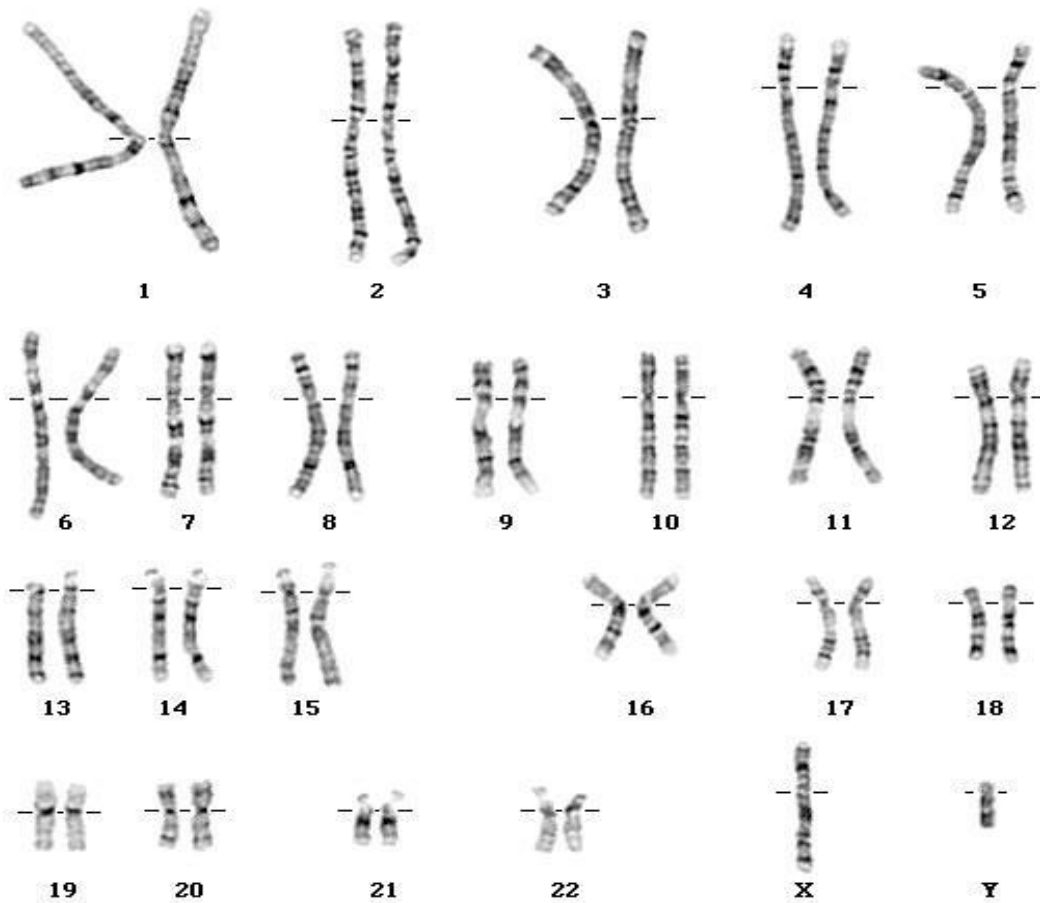
**Grupo C: Submetacéntricos medianos.** Los cromosomas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y el cromosoma X.

**Grupo D: Acrocéntricos medianos.** Cromosomas 13, 14 y 15, presentan satélites en sus brazos cortos.

**Grupo E: Submetacéntricos pequeños.** Los cromosomas 16, 17, 18,

**Grupo F: Metacéntricos pequeños.** Los cromosomas 19 y 20.

**Grupo G: Acrocéntricos pequeños.** Los cromosomas 21 y 22 y el cromosoma



### 3. MATERIALES Y EQUIPOS

#### a.- Equipos:

- Microscopios con objetivo 100X

#### b. Materiales:

- Aceite de inmersión
- Material de limpieza de microscopios
- Preparado cromosómico con bandas GTG

#### c. Reactivos:

- Alcohol absoluto



**4. NOTAS DE SEGURIDAD:** El estudiante no deberá comer, ni beber en las horas prácticas.

**5. HIPÓTESIS:** La identificación de los cromosomas en etapas de la metafase y la localización del centrómero permite una mejor observación y representación de su cariotipo.

**6. PROCEDIMIENTO:**

1. Buscar y seleccionar metafases completas y abiertas con el objetivo 10X
2. Observar con objetivo 100X la metafase seleccionada y confirmar que los cromosomas estén bien bandeados de tal modo que permita su identificación.
3. Identificar los cromosomas según el patrón de bandas características: los cromosomas de los grupos A, B, C, D, E, F y G.

**7. RESULTADOS**

La metafase seleccionada deberá ser una metafase aislada y que presente los cromosomas separados, no sobrepuestos, para lograr una fácil visualización

**8. CONCLUSIONES:**



### 9. CUESTIONARIO:

- 1.- ¿Qué diferencias hay entre los cromosomas del Grupo A, B, C, D, E, F y G?
- 2.- ¿Por qué el cromosoma Y no es un cromosoma Acrocéntrico?
- 3.- ¿Cómo definiría una banda marcadora?

### Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- 1.- Martínez ML, Sánchez MD. Resumen de la evolución de las técnicas de citogenética y genética molecular para la identificación de las alteraciones genéticas del desarrollo embrionario. *Semergen* 2010; 36(9):520–525
- 2.- Robert F, Muller Lan Young. **EMERY'S GENÉTICA MÉDICA**. Editorial Marban. 2009
- 3.- Solari J, et al. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Manual Moderno. 2010.
- 4.- Thompson J, Thompson M. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Salvat. 2010
- 5.- Gaytán MJ. Estudio del cariotipo humano. Aplicación en la vida prenatal y postnatal en una clínica de reproducción asistida. Tesis para optar Título Bióloga. UNAM. México. 2009
- 6.- Serre JL. **DIAGNOSTIC TECHNIQUES IN GENETICS**. Wiley-Liss. 2009



## GUÍA DE PRÁCTICA

### PRÁCTICA N°9: IDENTIFICACIÓN DE CROMOSOMAS EN MICROSCOPIA

Sección: .....

Fecha: ..../...../..... Duración: .... minutos

Nombres y apellidos: .....

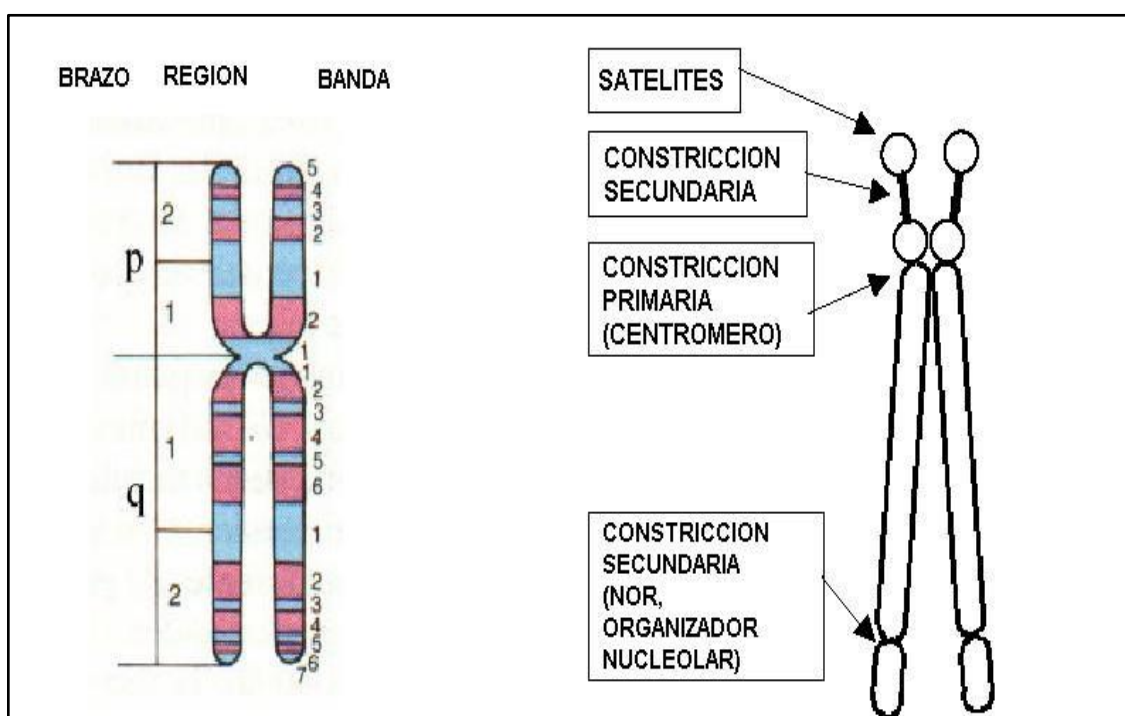
**Instrucciones:** En equipos de trabajo los estudiantes desarrollan cada una de las actividades planteadas, para ello lee las indicaciones con detenimiento para y presentar un informe de la práctica más el desarrollo de su cuestionario.

#### 1. PROPÓSITO:

Identificar los cromosomas a través del microscopio los cromosomas.

#### 2. CONCEPTOS BÁSICOS:

Los pares cromosómicos se ordenan de forma decreciente de tamaño, y luego se clasifican en grupos, de acuerdo al tamaño y a la ubicación del centrómero. Estos grupos se nombran con las letras: A, B, C, D, E, F, G. La representación ordenada de los cromosomas constituye el cariotipo.





**Grupo A: Metacéntricos grandes.** Cromosomas 1, 2, 3, excepto el 2, el cual es un cromosoma submetacéntrico grande.

**Grupo B: Submetacéntricos grandes.** Cromosomas 4 y 5.

**Grupo C: Submetacéntricos medianos.** Los cromosomas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y el cromosoma X.

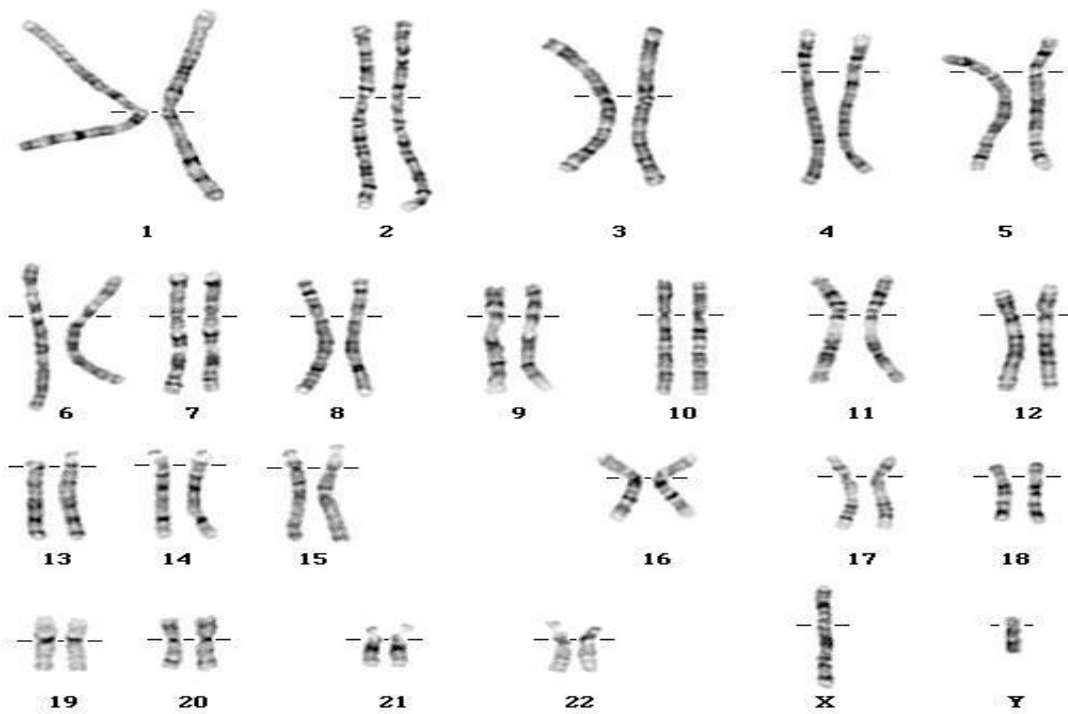
**Grupo D: Acrocéntricos medianos.** Cromosomas 13,14 y 15, presentan satélites en sus brazos cortos.

**Grupo E: Submetacéntricos pequeños.** Los cromosomas 16, 17, 18,

**Grupo F: Metacéntricos pequeños.** Los cromosomas 19 y 20.

**Grupo G: Acrocéntricos pequeños.** Los cromosomas 21 y 22 y el cromosoma

**Tamaño:** Los cromosomas sufren grandes variaciones en su tamaño a lo largo del ciclo celular, pasando de estar muy poco compactados (interfase) a estar muy compactados (metafase), por tal motivo, los estudios sobre el tamaño suelen realizarse en metafase mitótica. Además, es necesario tener en cuenta que los tratamientos para teñir los cromosomas y para obtener las metafases mitóticas influyen de manera muy importante en el tamaño de los cromosomas. En cualquier caso, en general es posible decir que hay especies eucarióticas con cromosomas grandes y especies con cromosomas pequeños. Las monocotiledóneas (vegetales) y los anfibios y ortópteros (animales) poseen cromosomas muy largos (10 a 20 micras). Las dicotiledóneas, las algas, los hongos y la mayoría de las especies animales poseen cromosomas pequeños (longitud inferior a 5 micras). Naturalmente, existen algunas excepciones en los ejemplos citados. El cromosoma 1 humano tiene 0,235 pg de ADN, que equivalen a una longitud total de ADN doble hélice 7,3 cm y en metafase mitótica presenta una longitud aproximada de 0,001 cm.



### 3. MATERIALES Y EQUIPOS

#### a. Materiales:

- Fotografías de cromosomas de cariotipos normales
- Tijeras
- Hojas de Cariograma

**4. NOTAS DE SEGURIDAD:** El estudiante no deberá comer, ni beber en las horas prácticas.

**5. HIPÓTESIS:** La identificación de los cromosomas en etapas de la metafase permite una mejor observación y representación del cariotipo.

#### 6. PROCEDIMIENTO:

- Identificar los cromosomas en las microfotografías
- Recortar los cromosomas con una tijera.
- Realizar el Cariograma de las metafases analizadas



## 7. RESULTADOS:

La metafase seleccionada deberá ser una metafase aislada y que presente los cromosomas separados, no sobrepuestos, para lograr una fácil visualización

## 8. CONCLUSIONES:

## 9. CUESTIONARIO:

1.- Revisión de Cariogramas Normales

### Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- 1.- Martínez ML, Sánchez MD. Resumen de la evolución de las técnicas de citogenética y genética molecular para la identificación de las alteraciones genéticas del desarrollo embrionario. *Semergen* 2010; 36(9):520–525
- 2.- Robert F, Muller Lan Young. **EMERY'S GENÉTICA MÉDICA**. Editorial Marban. 2009
- 3.- Solari J, et al. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Manual Moderno. 2010.
- 4.- Thompson J, Thompson M. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Salvat. 2010
- 5.- Gaytán MJ. Estudio del cariotipo humano. Aplicación en la vida prenatal y postnatal en una clínica de reproducción asistida. Tesis para optar Título Bióloga. UNAM. México. 2009
- 6.- Serre JL. **DIAGNOSTIC TECHNIQUES IN GENETICS**. Wiley-Liss. 2009
7. - Gersen SL, Keagle M. **THE PRINCIPLES OF CLINICAL CYTOGENETICS**. Humana Press. Second Edition; 2009

## GUÍA DE PRÁCTICA

### PRÁCTICA N°10: IDENTIFICACIÓN DE CROMOSOMAS CON ANEUPLOIDIAS NUMÉRICAS

Sección: .....

Fecha: ..../..../..... Duración: .... minutos

Nombres y apellidos: .....

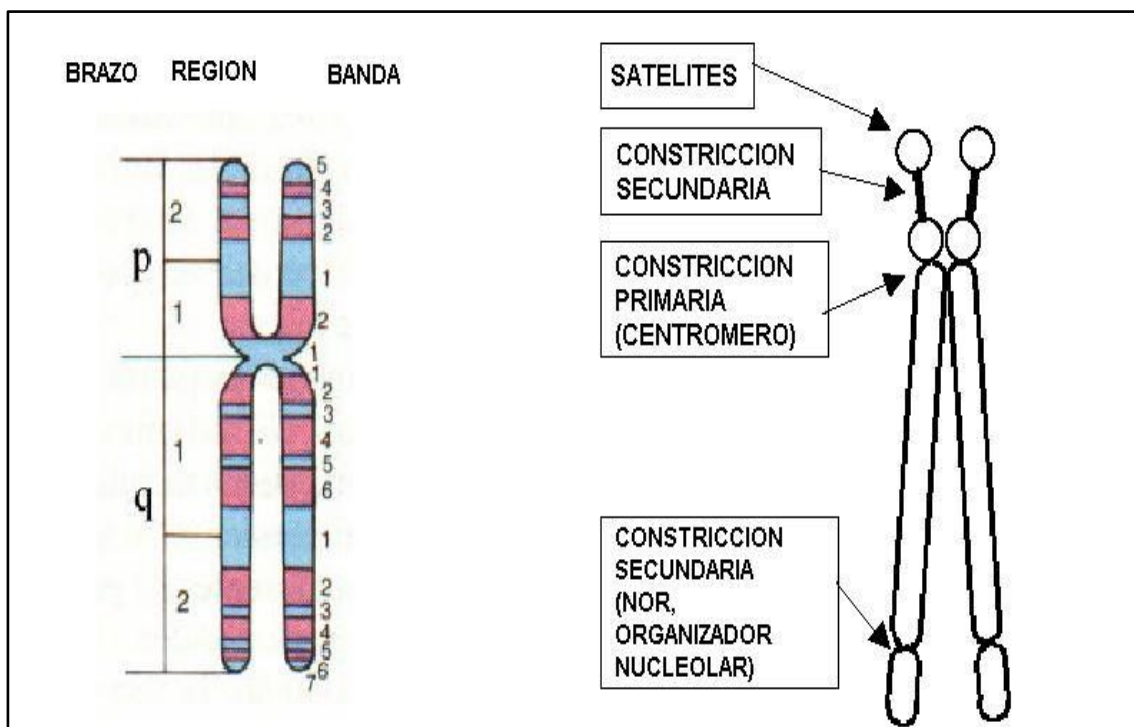
**Instrucciones:** En equipos de trabajo los estudiantes desarrollan cada una de las actividades planteadas, para ello lee las indicaciones con detenimiento para y presentar un informe de la práctica más el desarrollo de su cuestionario.

#### 1. PROPÓSITO:

Identificar los cromosomas en microfotografías de cariotipos anormales.

#### 2. CONCEPTOS BÁSICOS:

Los pares cromosómicos se ordenan de forma decreciente de tamaño, y luego se clasifican en grupos, de acuerdo al tamaño y a la ubicación del centrómero. Estos grupos se nombran con las letras: A, B, C, D, E, F, G. La representación ordenada de los cromosomas constituye el cariotipo.





**Grupo A: Metacéntricos grandes.** Cromosomas 1, 2, 3, excepto el 2, el cual es un cromosoma submetacéntrico grande.

**Grupo B: Submetacéntricos grandes.** Cromosomas 4 y 5.

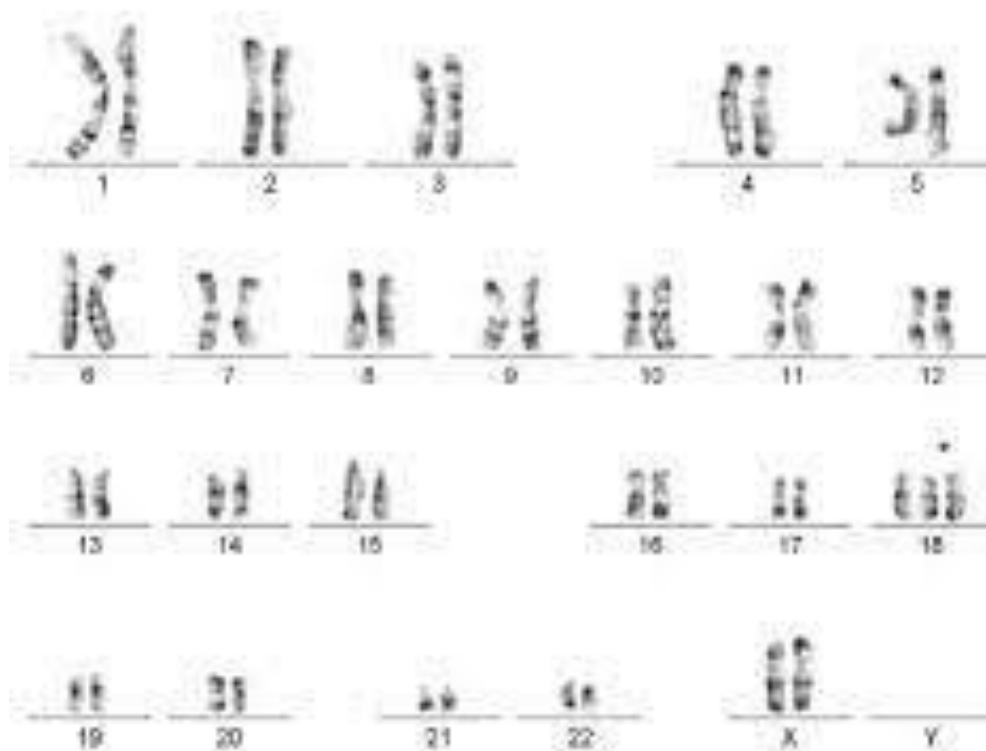
**Grupo C: Submetacéntricos medianos.** Los cromosomas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y el cromosoma X.

**Grupo D: Acrocéntricos medianos.** Cromosomas 13, 14 y 15, presentan satélites en sus brazos cortos.

**Grupo E: Submetacéntricos pequeños.** Los cromosomas 16, 17, 18,

**Grupo F: Metacéntricos pequeños.** Los cromosomas 19 y 20.

**Grupo G: Acrocéntricos pequeños.** Los cromosomas 21 y 22 y el cromosoma





### 3. MATERIALES Y EQUIPOS

#### a. Materiales:

- Fotografías de cromosomas de cariotipos anormales
- Tijeras
- Hoja de Cariograma

**4. NOTAS DE SEGURIDAD:** El estudiante no deberá comer, ni beber en las horas prácticas.

**5. HIPÓTESIS:** La identificación de los cromosomas en etapas de la metafase permite una mejor observación y representación del cariotipo.

### 6. PROCEDIMIENTO:

- Identificar los cromosomas en las microfotografías
- Recortar los cromosomas con una tijera.
- Realizar el Cariograma de las metafases analizadas

### 7. RESULTADOS:

La metafase seleccionada deberá ser una metafase aislada y que presente los cromosomas separados, no sobrepuestos, para lograr una fácil visualización

### 8. CONCLUSIONES:

#### 9. Cuestionario:

1.- Revisión de Sistema Internacional de Nomenclatura de Cromosomas

#### Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- 1.- Martínez ML, Sánchez MD. Resumen de la evolución de las técnicas de citogenética y genética molecular para la identificación de las alteraciones genéticas del desarrollo embrionario. *Semergen* 2010; 36(9):520–525
- 2.- Robert F, Muller Lan Young. **EMERY'S GENÉTICA MÉDICA**. Editorial Marban. 2009
- 3.- Solari J, et al. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Manual Moderno. 2010.
- 4.- Thompson J, Thompson M. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Salvat. 2010
- 5.- Gaytán MJ. Estudio del cariotipo humano. Aplicación en la vida prenatal y postnatal en una clínica de reproducción asistida. Tesis para optar Título Bióloga. UNAM. México. 2009
- 6.- Serre JL. **DIAGNOSTIC TECHNIQUES IN GENETICS**. Wiley-Liss. 2009
- 7.- Gersen SL, Keagle M. **THE PRINCIPLES OF CLINICAL CYTOGENETICS**. Humana Press. Second Edition; 2009
- 8.- Shaffer LG, Karger A. International System for Human Cytogenetic Nomenclature; 2013.

## GUÍA DE PRÁCTICA

### PRÁCTICA N°11: IDENTIFICACIÓN DE CROMOSOMAS CON ANEUPLOIDIAS ESTRUCTURAL

Sección: .....

Fecha: ..../..../..... Duración: .... minutos

Nombres y apellidos: .....

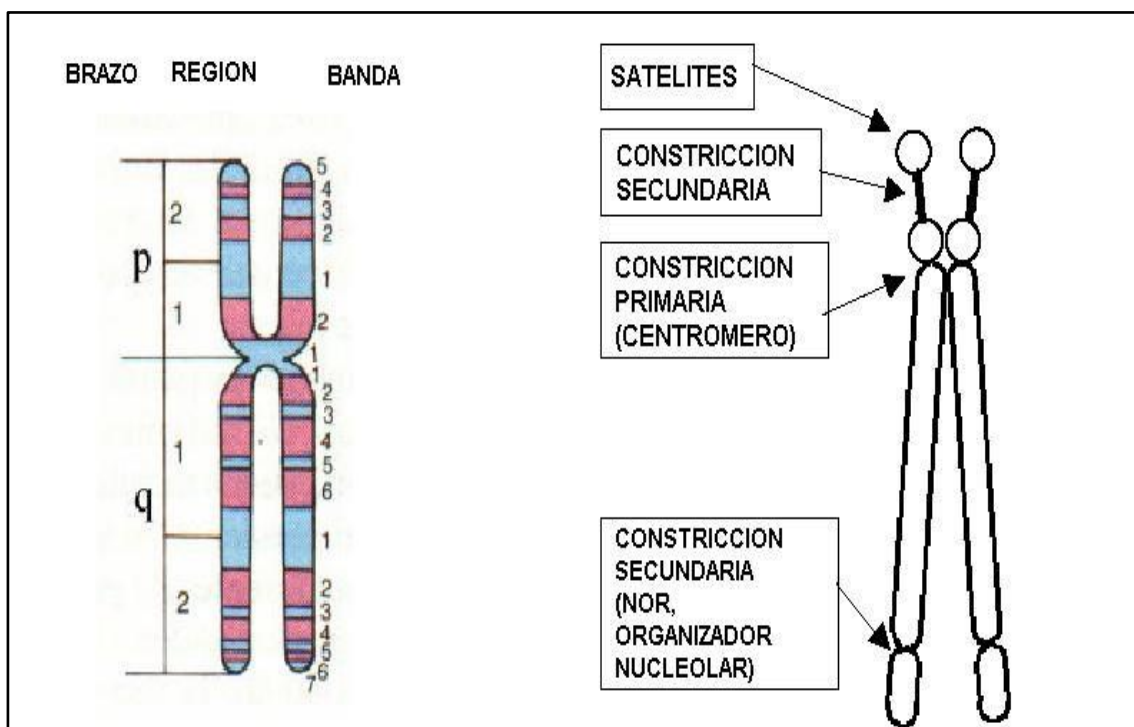
**Instrucciones:** En equipos de trabajo los estudiantes desarrollan cada una de las actividades planteadas, para ello lee las indicaciones con detenimiento para y presentar un informe de la práctica más el desarrollo de su cuestionario.

#### 10. PROPÓSITO:

Identificar los cromosomas en microfotografías de cariotipos anormales.

#### 11. CONCEPTOS BÁSICOS:

Los pares cromosómicos se ordenan de forma decreciente de tamaño, y luego se clasifican en grupos, de acuerdo al tamaño y a la ubicación del centrómero. Estos grupos se nombran con las letras: A, B, C, D, E, F, G. La representación ordenada de los cromosomas constituye el cariotipo.





**Grupo A: Metacéntricos grandes.** Cromosomas 1, 2, 3, excepto el 2, el cual es un cromosoma submetacéntrico grande.

**Grupo B: Submetacéntricos grandes.** Cromosomas 4 y 5.

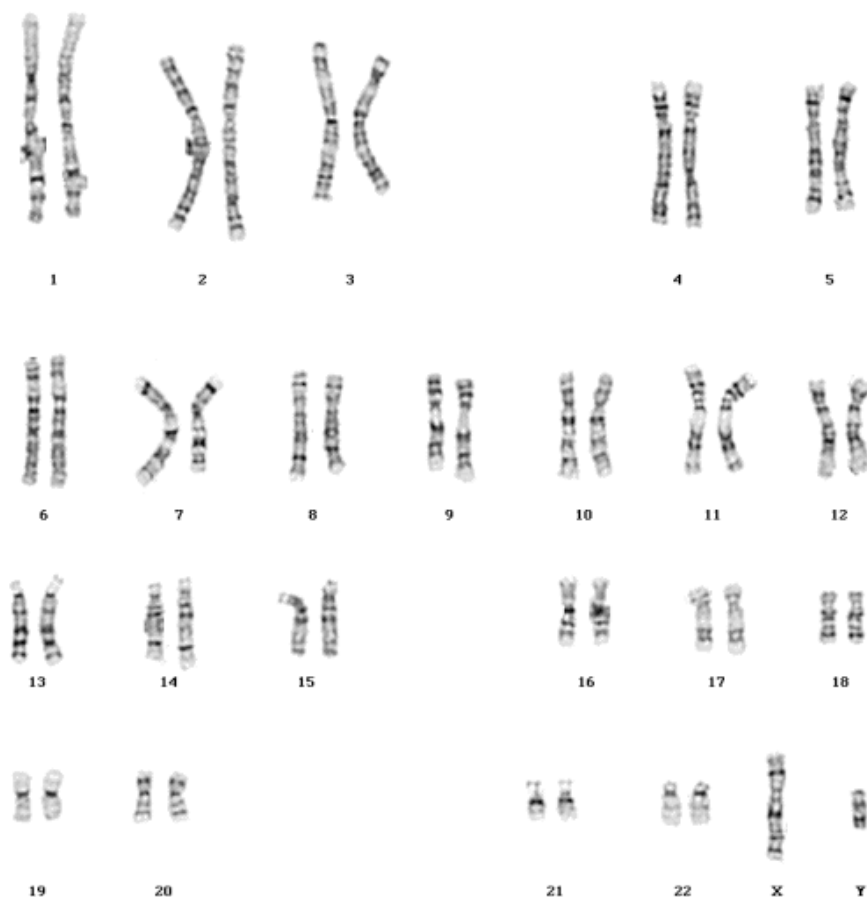
**Grupo C: Submetacéntricos medianos.** Los cromosomas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y el cromosoma X.

**Grupo D: Acrocéntricos medianos.** Cromosomas 13, 14 y 15, presentan satélites en sus brazos cortos.

**Grupo E: Submetacéntricos pequeños.** Los cromosomas 16, 17, 18,

**Grupo F: Metacéntricos pequeños.** Los cromosomas 19 y 20.

**Grupo G: Acrocéntricos pequeños.** Los cromosomas 21 y 22 y el cromosoma





## 12. MATERIALES Y EQUIPOS

### a. Materiales:

- Fotografías de cromosomas de cariotipos anormales
- Tijeras
- Hoja de Cariograma

13. **NOTAS DE SEGURIDAD:** El estudiante no deberá comer, ni beber en las horas prácticas.

14. **HIPÓTESIS:** La identificación de los cromosomas en etapas de la metafase permite una mejor observación y representación del cariotipo.

### 15. PROCEDIMIENTO:

- Identificar los cromosomas en las microfotografías
- Recortar los cromosomas con una tijera.
- Realizar el Cariograma de las metafases analizadas

### 16. RESULTADOS:

La metafase seleccionada deberá ser una metafase aislada y que presente los cromosomas separados, no sobrepuestos, para lograr una fácil visualización

### 17. CONCLUSIONES:

### 18. Cuestionario:

1.- Revisión de Sistema Internacional de Nomenclatura de Cromosomas

#### Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- 1.- Martínez ML, Sánchez MD. Resumen de la evolución de las técnicas de citogenética y genética molecular para la identificación de las alteraciones genéticas del desarrollo embrionario. *Semergen* 2010; 36(9):520–525
- 2.- Robert F, Muller Lan Young. **EMERY'S GENÉTICA MÉDICA**. Editorial Marban. 2009
- 3.- Solarí J, et al. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Manual Moderno. 2010.
- 4.- Thompson J, Thompson M. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Salvat. 2010
- 5.- Gaytán MJ. Estudio del cariotipo humano. Aplicación en la vida prenatal y postnatal en una clínica de reproducción asistida. Tesis para optar Título Bióloga. UNAM. México. 2009
- 6.- Serre JL. **DIAGNOSTIC TECHNIQUES IN GENETICS**. Wiley-Liss. 2009
- 7.- Gersen SL, Keagle M. **THE PRINCIPLES OF CLINICAL CYTOGENETICS**. Humana Press. Second Edition; 2009
- 8.- Shaffer LG, Karger A. *International System for Human Cytogenetic Nomenclature*; 2013.



## GUÍA DE PRÁCTICA

### PRÁCTICA N°12: SISTEMA DE NOMENCLATURA CROMOSÓMICA

Sección: ..... Fecha: .../.../..... Duración: .... minutos  
Nombres y apellidos: .....

**Instrucciones:** En equipos de trabajo los estudiantes desarrollan cada una de las actividades planteadas, para ello lee las indicaciones con detenimiento para y presentar un informe de la práctica más el desarrollo de su cuestionario.

#### 1. PROPÓSITO:

Interpretar los cariotipos según el sistema de nomenclatura cromosómica.

#### 2. CONCEPTOS BÁSICOS:

Cada cromátide de un cromosoma está formada por una molécula de ADN en un soporte de proteínas. La cromátide está constituida por cromatina; que es el conjunto del ADN con las proteínas de soporte, formadas fundamentalmente por histonas y otras.

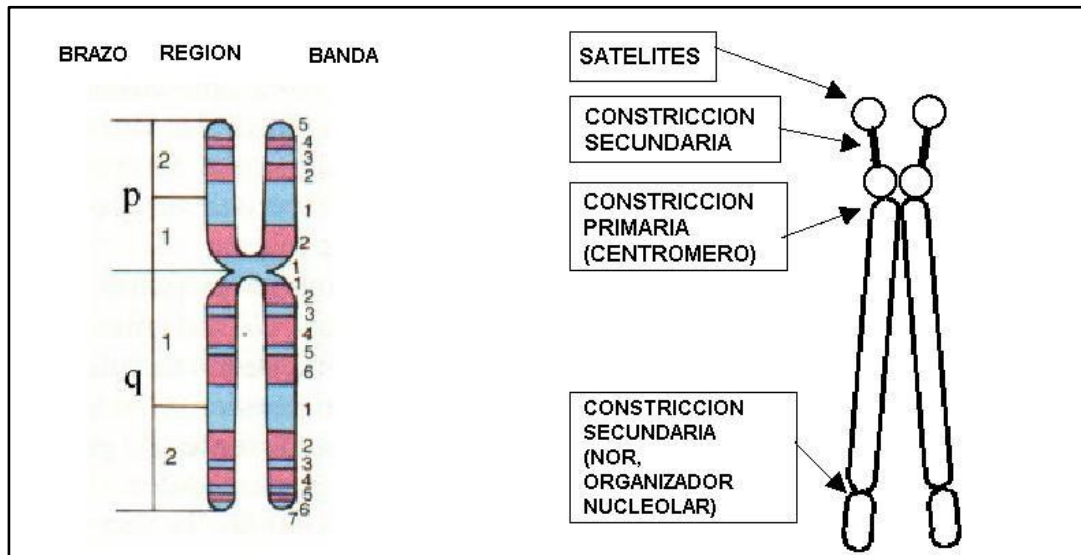
Los cromosomas cambian ligeramente de forma según la etapa de la división celular; son más alargados en profase y alcanzan el máximo de condensación en la metafase; por lo cual es el momento ideal para observarlos.

En esa etapa podemos observar que cada cromosoma tiene una zona que es como una constricción, y se llama el centrómero (constricción primaria). El centrómero determina en el cromosoma los brazos cortos (p) y los brazos largos (q).

Según la posición del centrómero, los cromosomas se clasifican en:

- **Metacéntricos:** el centrómero se localiza a mitad del cromosoma y los dos brazos presentan igual longitud.
- **Submetacéntricos:** la longitud de un brazo del cromosoma es algo mayor que la del otro.
- **Acrocéntrico:** un brazo es muy corto (p) y el otro largo (q).

- **Telocéntrico:** sólo se aprecia un brazo del cromosoma al estar el centrómero en el extremo (este tipo de cromosomas no se encuentran en el cariotipo humano).



L  
o  
s  
p  
a  
r

es cromosómicos se ordenan de forma decreciente de tamaño, y luego se clasifican en grupos, de acuerdo al tamaño y a la ubicación del centrómero. Estos grupos se nombran con las letras: A, B, C, D, E, F, G. La representación ordenada de los cromosomas constituye el cariotipo.

**Grupo A: Metacéntricos grandes.** Cromosomas 1, 2, 3, excepto el 2, el cual es un cromosoma submetacéntrico grande.

**Grupo B: Submetacéntricos grandes.** Cromosomas 4 y 5.

**Grupo C: Submetacéntricos medianos.** Los cromosomas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y el cromosoma X.

**Grupo D: Acrocéntricos medianos.** Cromosomas 13,14 y 15, presentan satélites en sus brazos cortos.

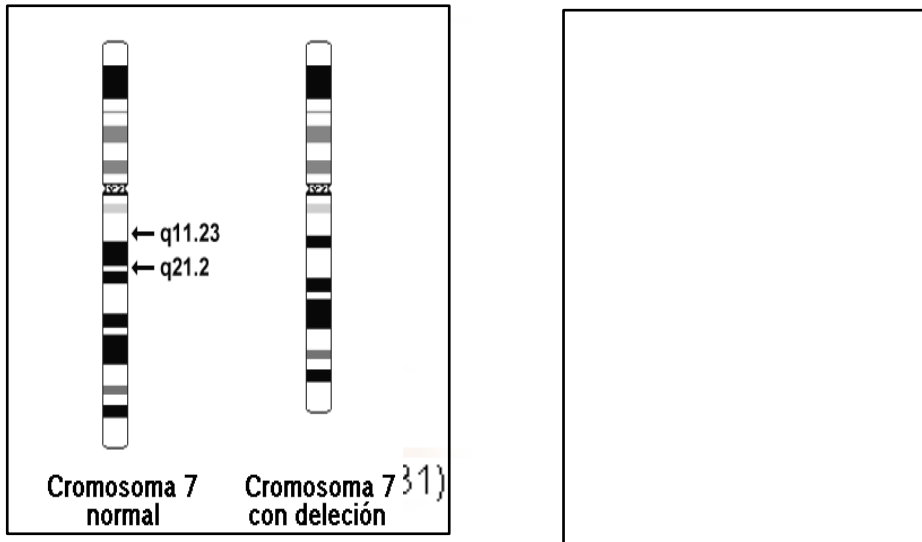
**Grupo E: Submetacéntricos pequeños.** Los cromosomas 16, 17, 18,

**Grupo F: Metacéntricos pequeños.** Los cromosomas 19 y 20.

**Grupo G: Acrocéntricos pequeños.** Los cromosomas 21 y 22 y el cromosoma Y

### ANOMALÍAS ESTRUCTURALES DE LOS CROMOSOMAS

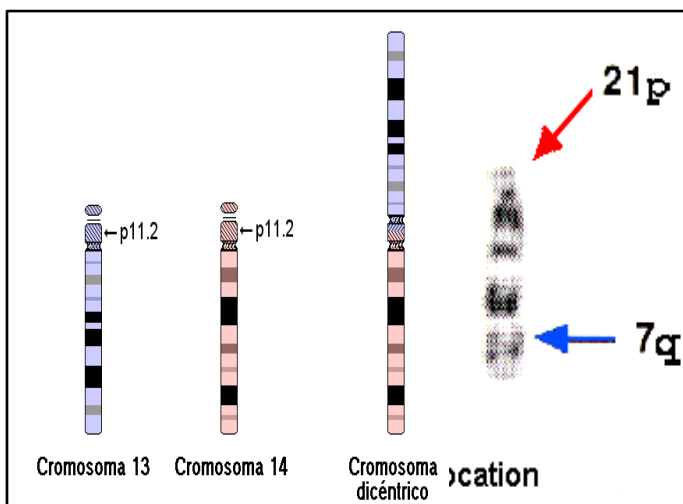
**Delección:** Cuando se pierde un fragmento de cromosomas. Puede ser Terminal o intersticial.



**Translocación:** Cuando hay cambio de posición de un fragmento, el cual va a parar a otro cromosoma, generalmente implica una ruptura en cada cromosoma.

Recíproca: Cuando hay intercambio de fragmentos entre dos cromosomas;

Robertsoniana: Unión entre los brazos largos de dos cromosomas acrocéntricos. Se dice que una translocación es balanceada o equilibrada cuando no hay pérdida ni ganancia de material genético en la misma (las Robertsonianas se consideran balanceadas).

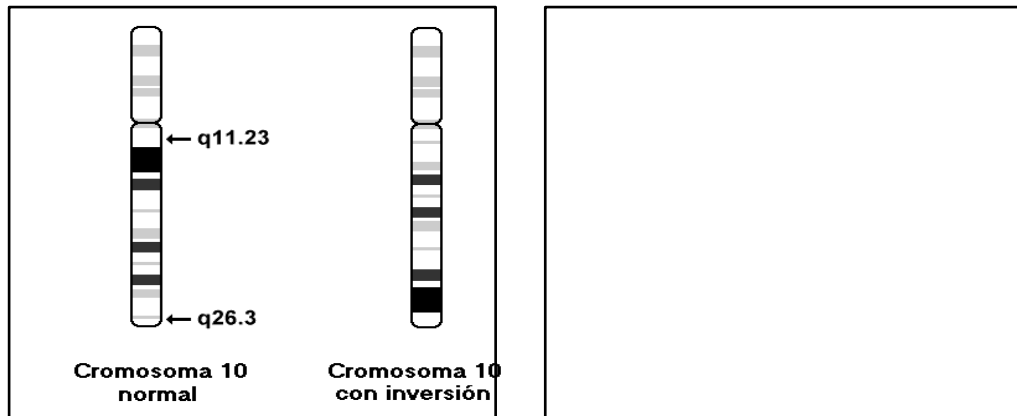
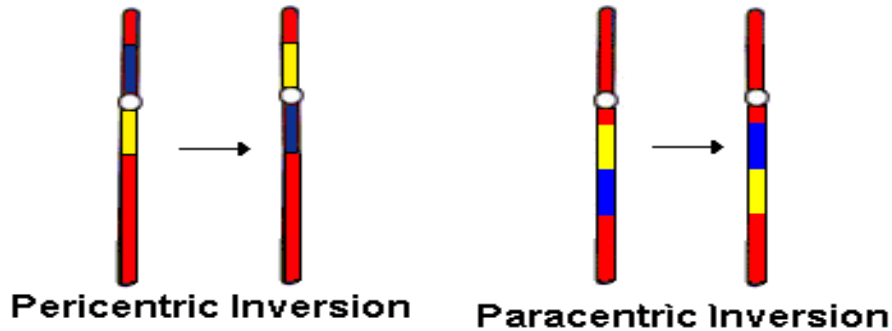


**Inversión:** Implica dos rupturas dentro del cromosoma. Puede ser pericéntrica o paracéntrica, según el segmento involucrado comprenda o no al centrómero.

Es anomalía balanceada, pero,



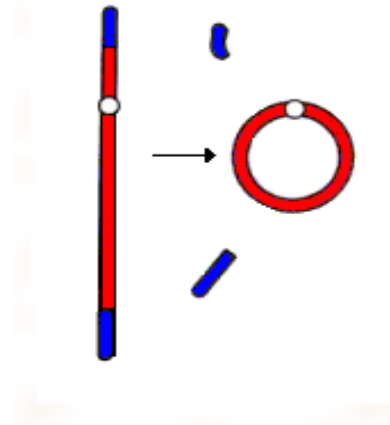
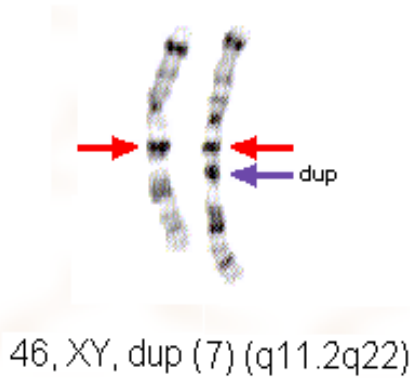
mediante el fenómeno de "entrecruzamiento desigual", puede originar gametos con cromosomas que contengan regiones duplicadas o faltantes.



**Duplicación:** Es un fenómeno más difícil de explicar; cuando no ha sido consecuencia de una inversión en cromosomas paternos, probablemente se debe a translocación entre dos cromosomas homólogos, durante la meiosis que originó uno de los gametos paternos o maternos.

La duplicación puede ser en serie o en espejo.

**Cromosoma en anillo:** Se origina por ruptura en ambos extremos del mismo cromosoma.



### NOMENCLATURA EN ANOMALÍAS ESTRUCTURALES DE LOS CROMOSOMAS

De acuerdo a la Conferencia de París (1971) y posteriores (hasta ISCN 1995) hay dos sistemas de nomenclatura: El breve y el detallado.

**El breve** solamente indica cuáles son los cromosomas involucrados y los puntos de ruptura de un rearrreglo.

**El detallado** describe cada uno de los cromosomas resultantes.

#### SIMBOLOS:

p	brazo corto	q	brazo largo
□	de..... hasta	:	ruptura
::	Ruptura y unión	cen	centrómero
chi	quimera	mos	mosaico
del	deleción	der cromos.	derivado
dic	dicéntrico	fra	lugar frágil
dup	duplicación	dir	directo
i	isocromosoma	mar cromosoma	marcador
inv	inversión	ins	inserción
mat	de origen materno	pat	de origen paterno
r	anillo t	translocación	
rob	translocación robertsoniana	ter	telómero
add			material adicional de origen
	desconocido		

#### Deleción terminal



46,XX,del(8)(p12)

46,XX,del(8)(qter□p12):

**Delección intersticial**

46,XX,del(8)(q21q23)

**Isocromosoma del brazo largo**

46,X,i(X)(q10)

**Isocromosoma del brazo corto**

46,XY,i(5)(p10)

**Inversión pericéntrica**

46,XY,inv(4)(p15q13)

46,XY,inv(4)(pter□p15::q13□p15::q13□qter)

**Inversión paracéntrica**

46,XY,inv(13)(q13q32)

46,XY,inv(13)(pter□q13::q32□q13::q32□qter)

**Cromosoma en anillo**

46,XX,r(18)(p11q22)

46,XX,r(18)(p11□q22)

**Translocación recíproca**

46,XY,t(2;8)(p13;q12)

46,XY,t(2;8)(2pter□2p13::8q12□8pter;2qter□2p13::8q12□8qter)

**Trisomía y monosomía parciales por herencia de cromosomas derivados**

46,XY, der(8)t(2;8)(p13;q12)pat

46,XY, der(8pter□8q12::2p13□2pter)pa

+

**Translocación robertsoniana balanceada**

45,XX,der(14;21)(q10;q10)

45,XX,der(14;21)(14qter□cen□21qter)

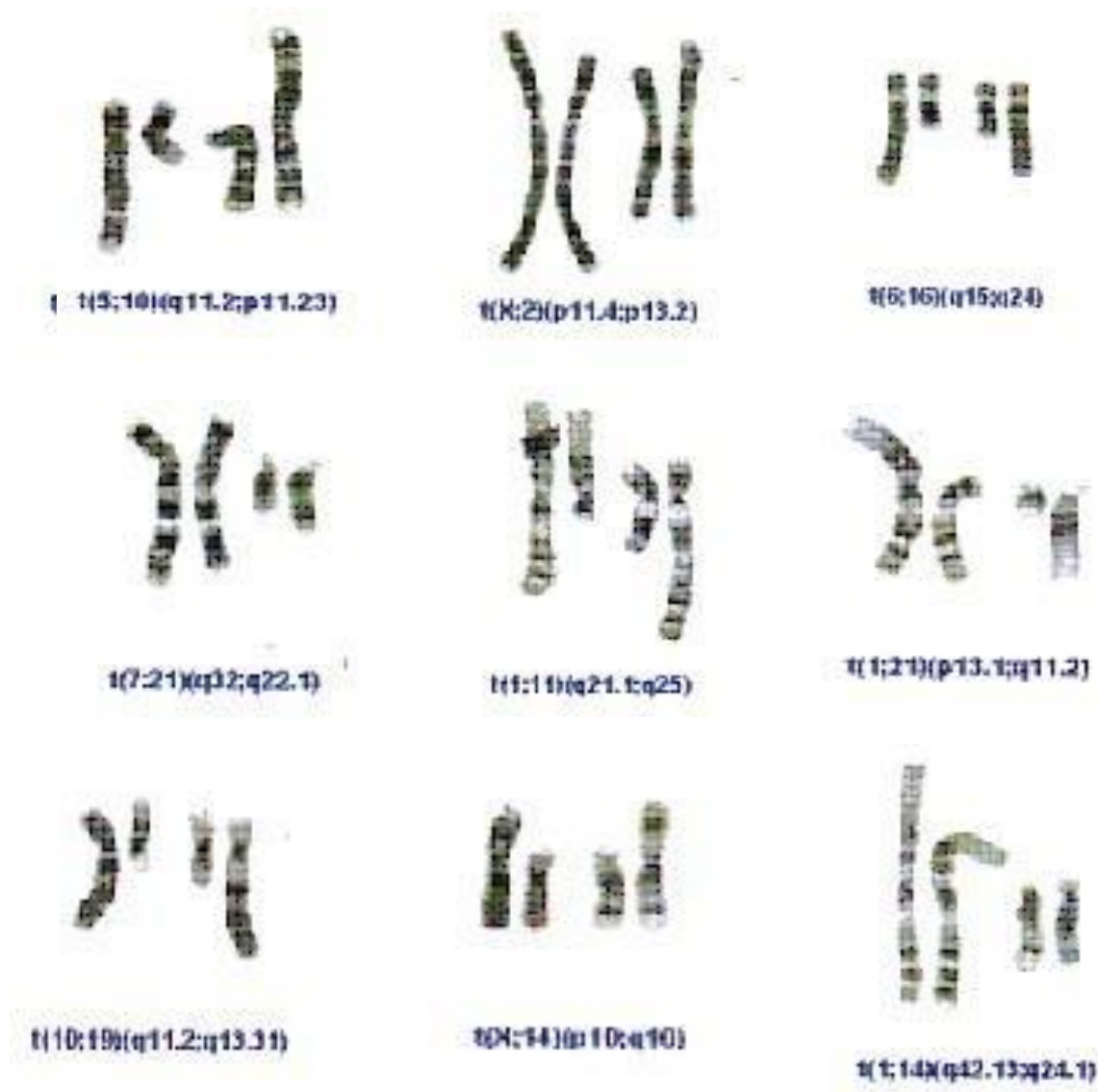




### Translocación robertsoniana desbalanceada

46,XX,+13,der(13;14)(q10;q10)

46,XX,+13,der(13;14)(13qter□13q10::14q10□14qter)



**4. NOTAS DE SEGURIDAD:** El estudiante no deberá comer, ni beber en las horas prácticas.

**5. HIPÓTESIS:** La identificación de los cromosomas en etapas de la metafase permite una mejor observación y representación del cariotipo.

### 6. PROCEDIMIENTO:

La metodología a usar será únicamente práctica, cada alumno procesara su propia



muestra y trabajara con fotografías al final de la práctica identificara cada uno de los cromosomas.

- Identificar los cromosomas en las microfotografías
- Recortar los cromosomas con una tijera.
- Realizar el cariograma de las metafases analizadas

## 7. RESULTADOS

La metafase seleccionada deberá ser una metafase aislada y que presente los cromosomas separados, no sobrepuestos, para lograr una fácil visualización

## 8. CUESTIONARIO:

1.- Revisión de Sistema Internacional de Nomenclatura de Cromosomas

### Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

- 1.- Martínez ML, Sánchez MD. Resumen de la evolución de las técnicas de citogenética y genética molecular para la identificación de las alteraciones genéticas del desarrollo embrionario. *Semergen* 2010; 36(9):520–525
- 2.- Robert F, Muller Lan Young. **EMERY'S GENÉTICA MÉDICA**. Editorial Marban. 2009
- 3.- Solari J, et al. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Manual Moderno. 2010.
- 4.- Thompson J, Thompson M. **GENÉTICA MÉDICA**. Ed. Salvat. 2010
- 5.- Gaytán MJ. Estudio del cariotipo humano. Aplicación en la vida prenatal y postnatal en una clínica de reproducción asistida. Tesis para optar Título Bióloga. UNAM. México. 2009
- 6.- Serre JL. **DIAGNOSTIC TECHNIQUES IN GENETICS**. Wiley-Liss. 2009
- 7.- Gersen SL, Keagle M. **THE PRINCIPLES OF CLINICAL CYTOGENETICS**. Humana Press. Second Edition; 2009
- 8.- Shaffer LG, Karger A. *International System for Human Cytogenetic Nomenclature*; 2013.