

12

Congreso Colombiano **Acobasmet**
de Bancos de Sangre y Medicina
Transfusional
Congreso Iberoamericano **GCIAMT**
*Nuevamente juntos, innovando
para fortalecer capacidades*



Cómo abordar la identificación de anticuerpos contra antígenos de alta frecuencia

Herramientas moleculares

Prof. Dr. Carlos Cotorruelo

Laboratorio de Inmunohematología

Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas

Universidad Nacional de Rosario

IDICER - CONICET

El conocimiento actual del **polimorfismo molecular** de los sistemas de grupos sanguíneos eritrocitarios permite predecir el fenotipo a partir de la determinación del genotipo



Genotipificación eritrocitaria

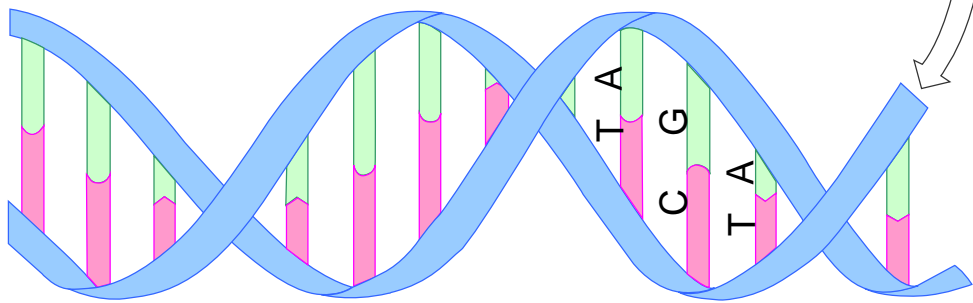
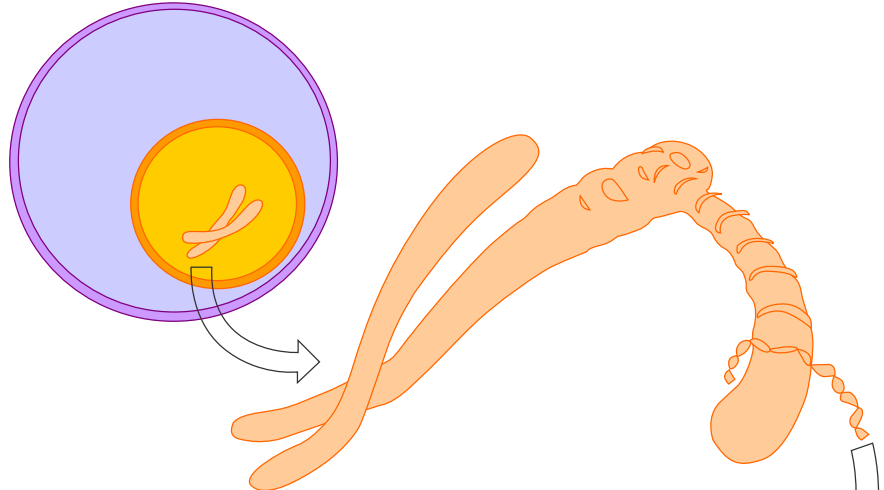
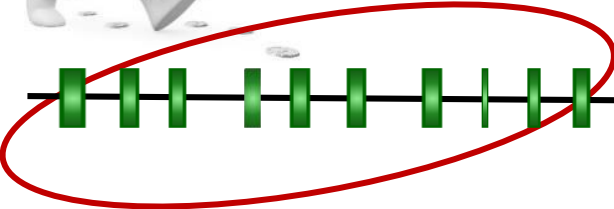


Detección de los **alelos** que codifican para los antígenos de grupos sanguíneos

Herramientas moleculares



alelos



FY FY*A
FY*B
FY*01N.01 (FY*Bnull)
FY*02W.01 (FY*X)

CO CO*A
CO*B

JK JK*A
JK*B
JKnull

RH RH*D
RH*C
RH*c
RH*E
RH*e

DI DI*A
DI*B

DO DO*A
DO*B

MNS M
N
S
s
U

KEL KEL*01
KEL*02
KP*A
KP*B
JS*A
JS*B
K_{mod}
K₀

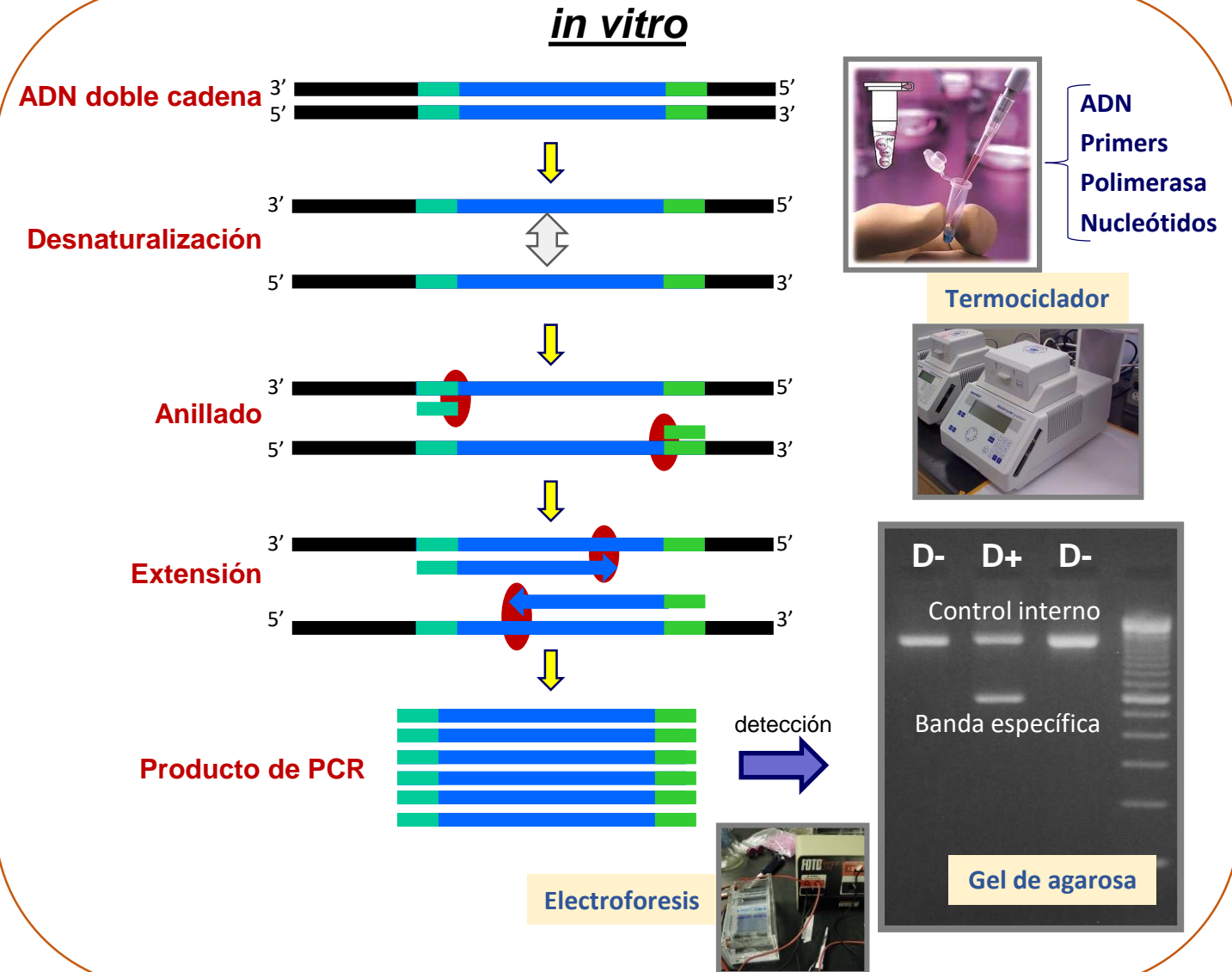
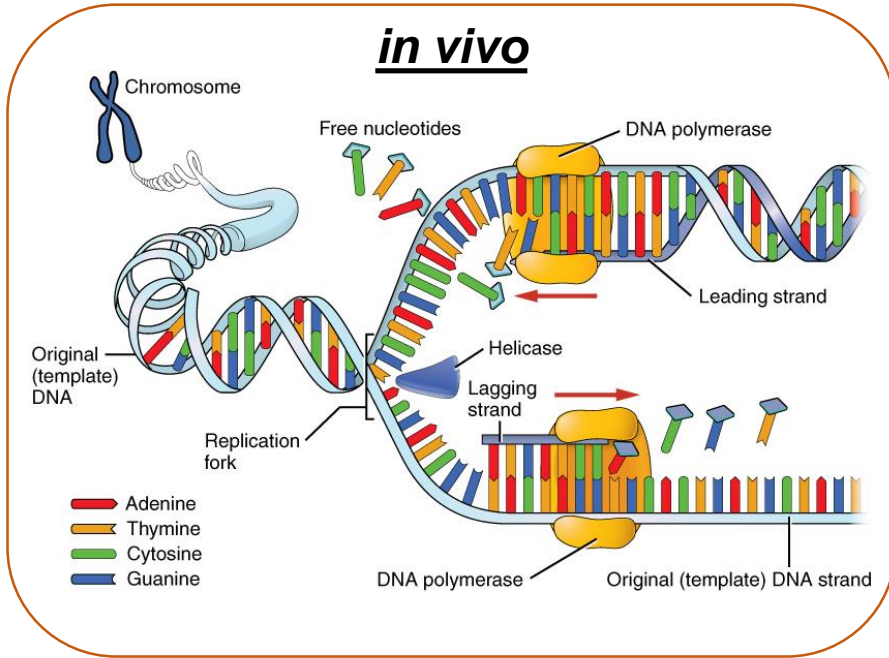
Lu LU*A
LU*B
KLF1*BGM01

Yt YT*A
YT*B

Herramientas moleculares

PCR

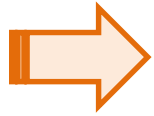
Amplificación enzimática de un fragmento de ADN simulando "in vitro" una replicación natural del ADN



Estrategias basadas en PCR

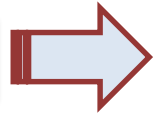
- PCR alelo específica (PCR-SSP ó AS-PCR)
- PCR + enzima de restricción (PCR-RFLP)
- PCR en tiempo real
- PCR + hibridización: microarray

Anti-Co^a

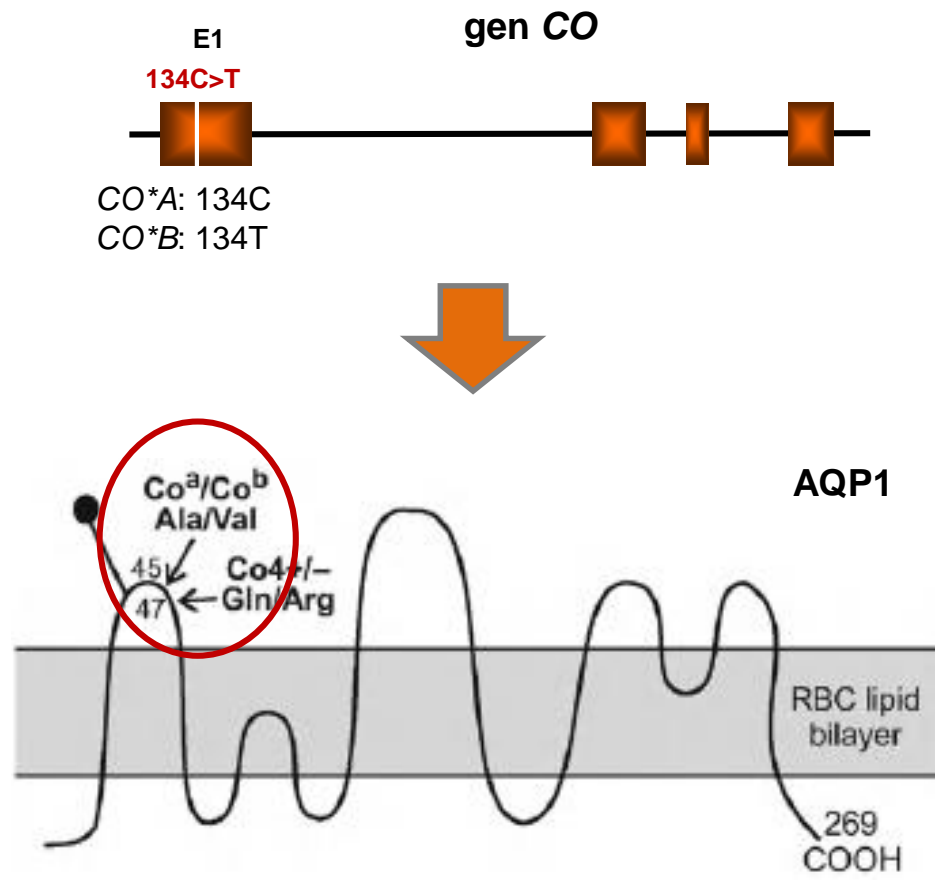


Co(a-)

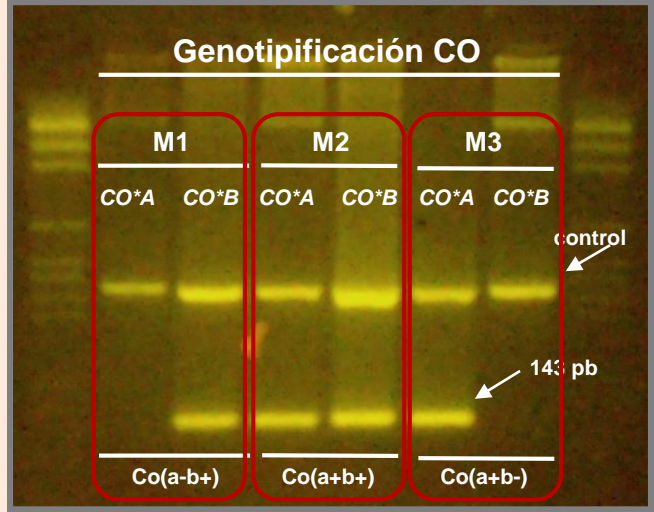
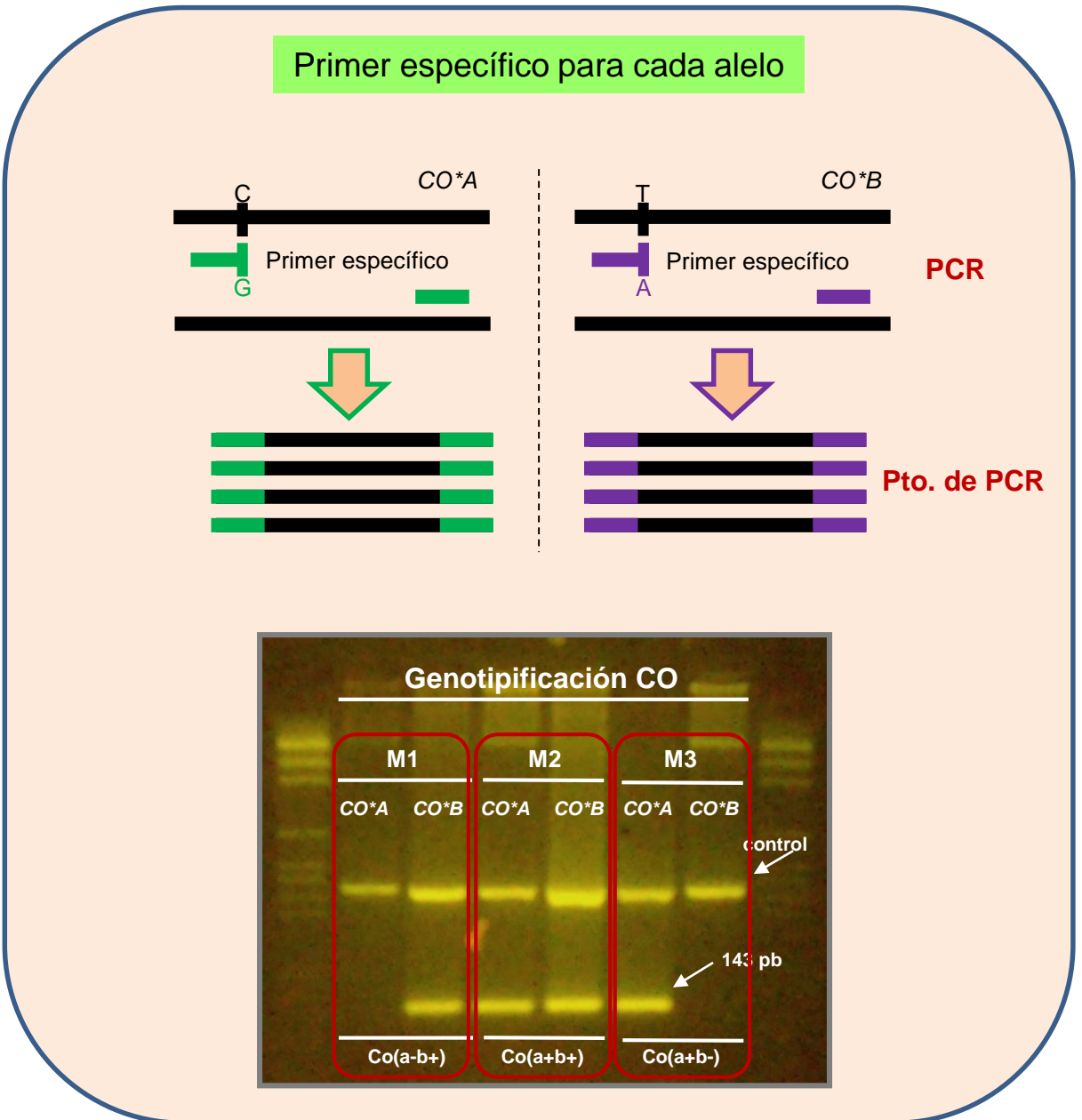
PCR alelo específica



Detección de los alelos CO^{*A} - CO^{*B}



THE BLOOD GROUP ANTIGEN. Facts Book. Marion E. Reid, Christine Lomas-Francis, Martin L. Olsson.

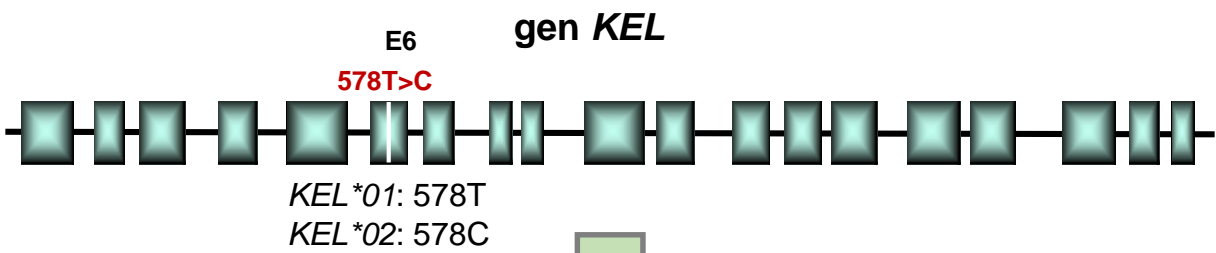
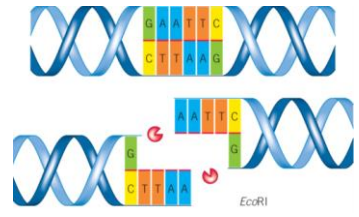


Anti-k \Rightarrow K+k-

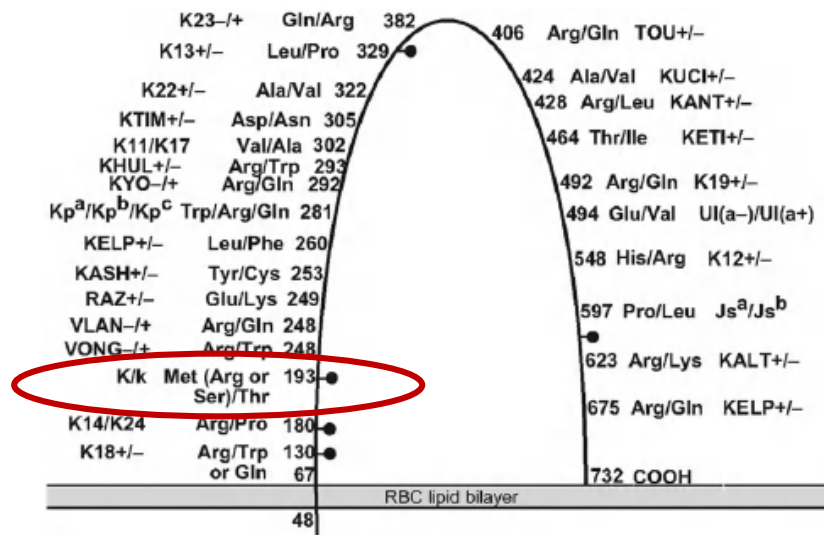
PCR-RFLP \Rightarrow

Enzima de restricción para diferenciar *KEL**01 y *KEL**02

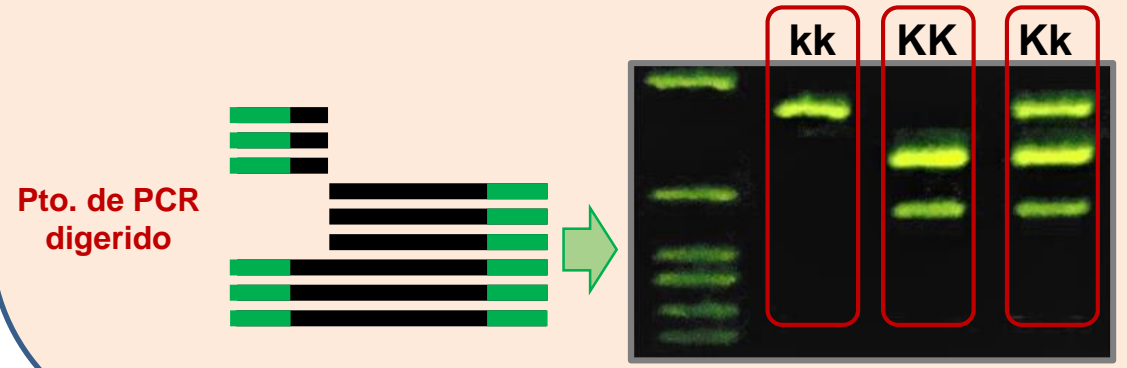
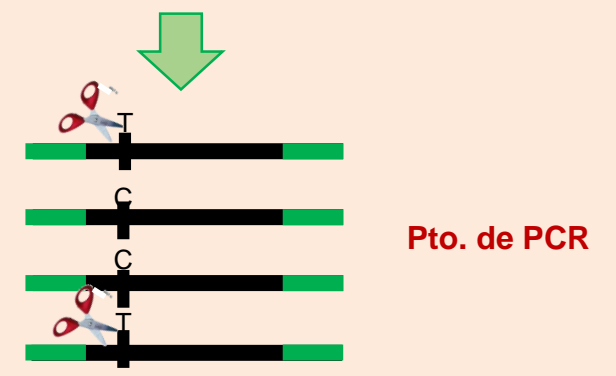
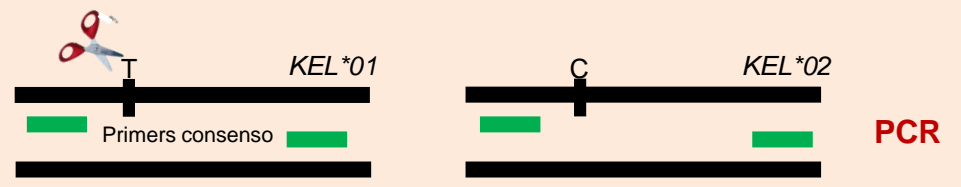
Las enzimas de restricción son proteínas que reconocen y cortan las moléculas de ADN en secuencias nucleotídicas específicas.



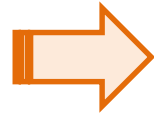
Glicoproteína Kell



Enzima de restricción para diferenciar cada alelo

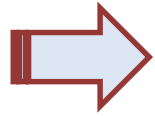


Anti-Di^b



Di(b-)

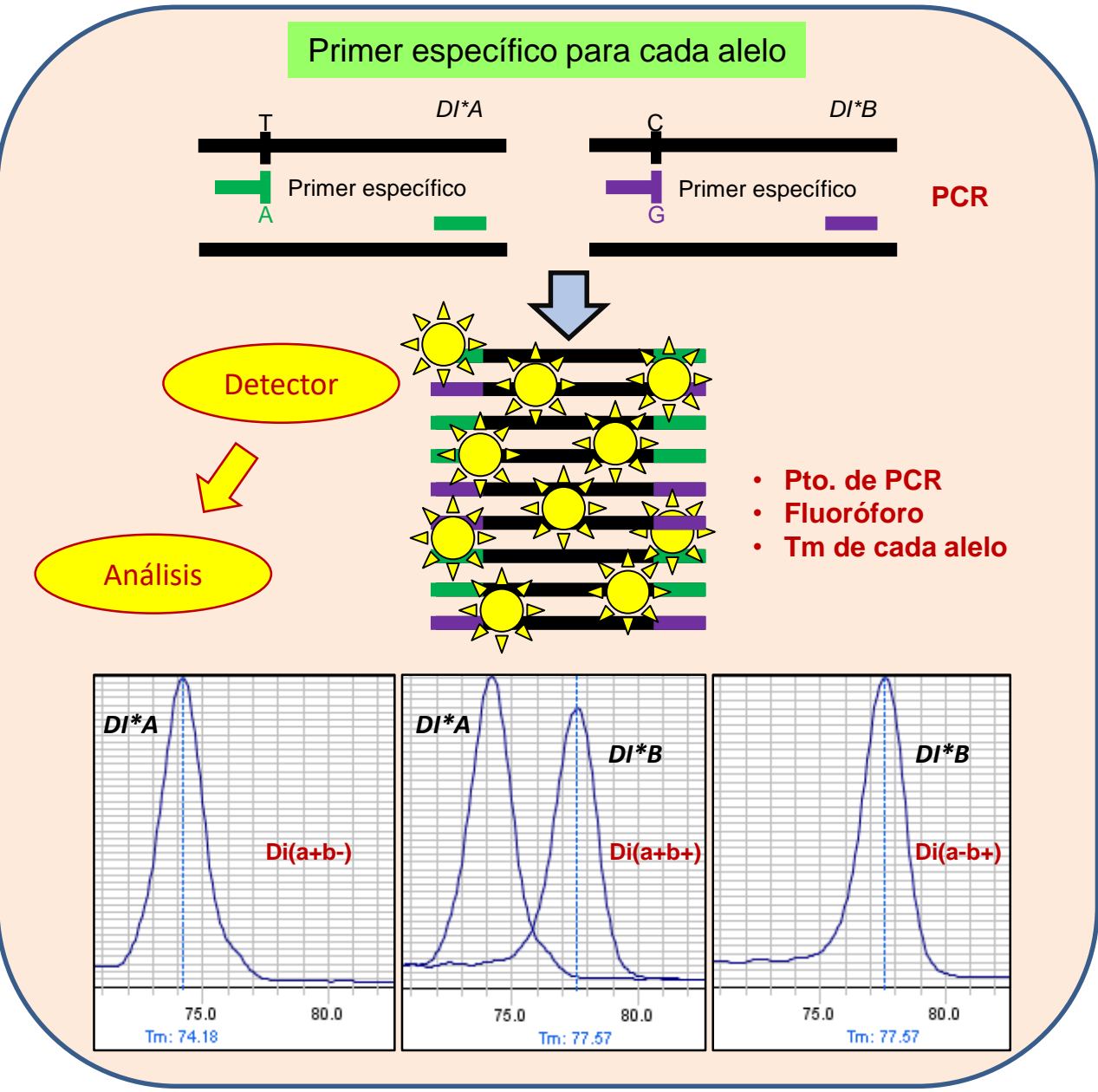
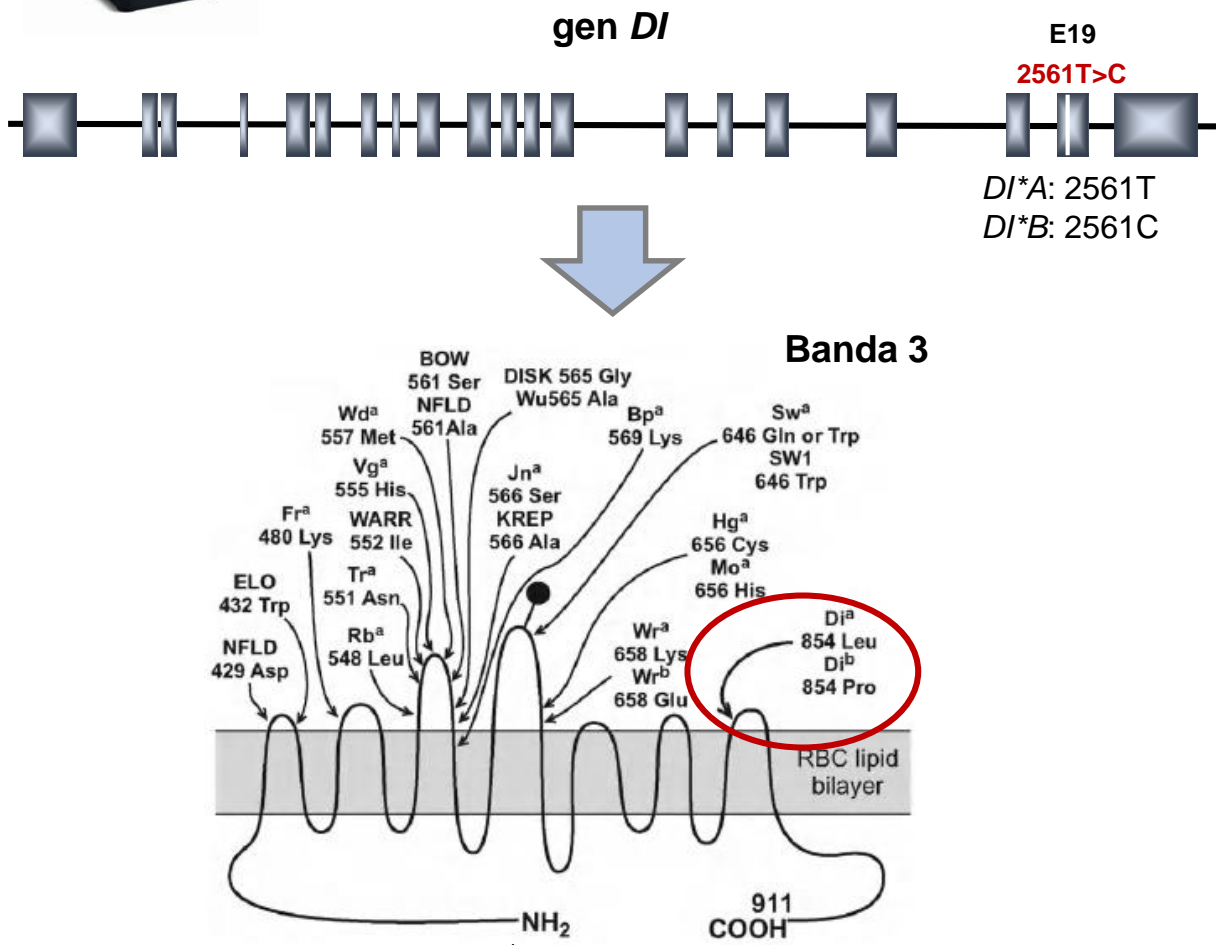
PCR en tiempo real



DETECCIÓN de los alelos *DI*A* - *DI*B*



La PCR en tiempo real es una técnica que combina la **amplificación** y la **detección** en un mismo paso, al correlacionar el producto de la PCR de cada uno de los ciclos con una señal de intensidad de fluorescencia.



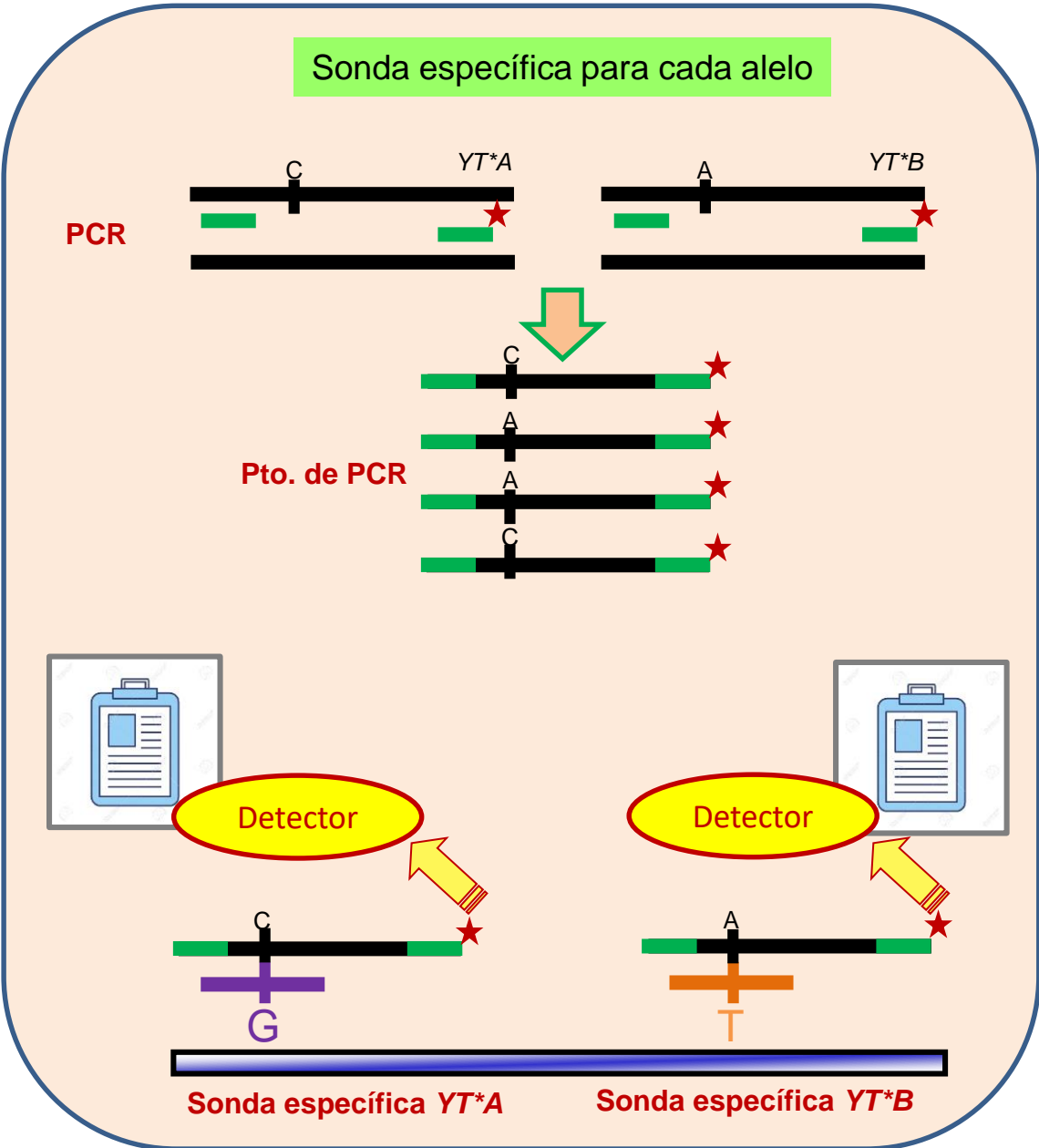
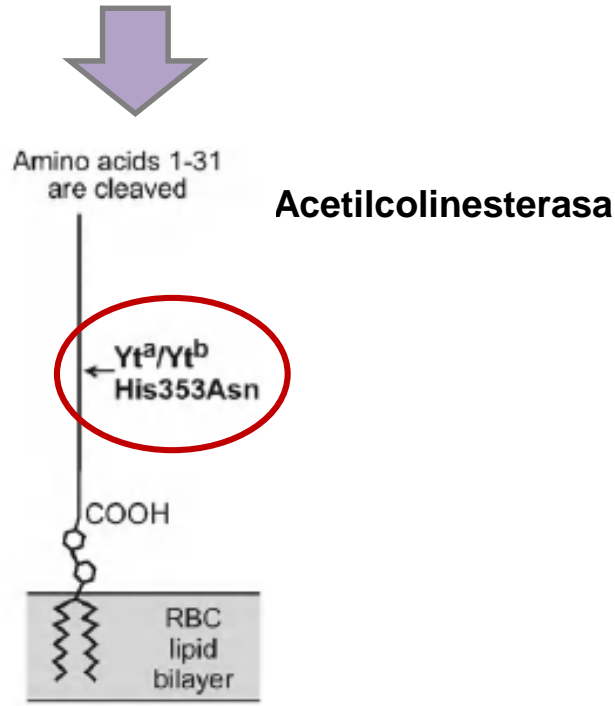
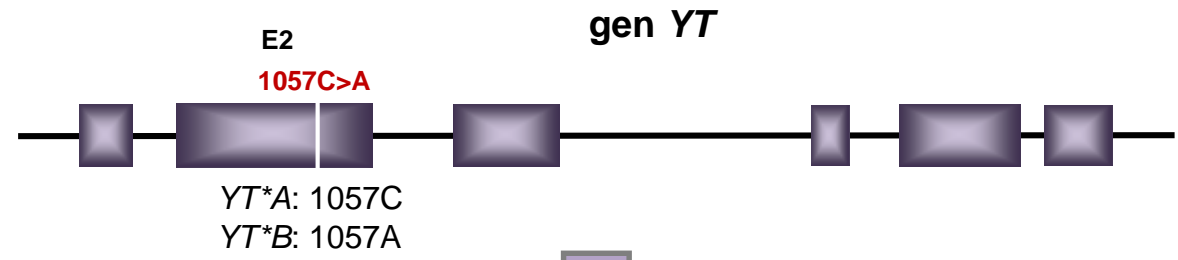
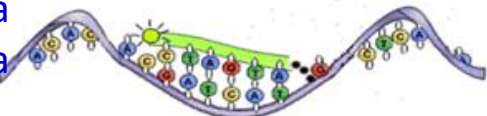
Anti-Yt^a → Yt(a-)

PCR – hibridización

Sonda para detectar los alelos YT*A - YT*B

Microarray

Una sonda es una secuencia de ADN de cadena simple que se utiliza para encontrar su secuencia complementaria en el genoma o producto de PCR.



12

Congreso Colombiano **Acobasmet**
de Bancos de Sangre y Medicina
Transfusional
Congreso Iberoamericano **GCIAMT**
Nuevamente juntos, innovando
para fortalecer capacidades



Cómo abordar la identificación de anticuerpos contra antígenos de alta frecuencia

Herramientas moleculares

- La herramientas moleculares son múltiples y variadas
- Son utilizadas en equipos comerciales o desarrollos *in house*
- Permiten predecir el fenotipo a partir de la determinación del genotipo
- Detectan un único polimorfismo o múltiples polimorfismos por ensayo
- Resultan fundamentales para el estudio de fenotipos poco frecuentes

muchas gracias