
ESTANDARIZACIÓN DE PCR PARA LA DETECCIÓN DE LA MUTACIÓN DEL GEN *HTT* EN LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON

LUCIANO MARTÍNEZ SEPÚLVEDA
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA

RESUMEN

La enfermedad de Huntington (EH) es una enfermedad neurodegenerativa con herencia autosómica dominante que afecta el sistema nervioso central y más predominantemente a los núcleos basales, caracterizada por movimientos involuntarios tipo corea, alteraciones psiquiátricas y deterioro cognitivo. Se origina por una mutación tipo expansión del trinucleótido CAG del extremo 5', en el exón 1 del gen que codifica la proteína Huntingtina (*HTT*), localizada en el brazo corto del cromosoma 4 (4p16.3). Actualmente en Chile la prueba diagnóstica suele ser poco accesible debido a su alto costo. Es por ello entonces, que el objetivo de este estudio fue estandarizar un protocolo de PCR para la detección de la mutación del gen *HTT* en la enfermedad de Huntington, mucho más económico, y acorde a la realidad de los centros de salud del país. Las variables implicadas en la estandarización fueron: concentración de cloruro de magnesio (MgCl₂), porcentaje del aditivo para la *Taq* polimerasa, concentración de ADN, número de ciclos de la PCR y cambio de la temperatura de alineamiento de iniciadores. Estas fueron aplicadas a una muestra de paciente sano (sin la mutación) y a una muestra de paciente que presentaba signos de la enfermedad (con la mutación), ambos con resultado de prueba genética conocido y confirmado por PCR y electroforesis capilar en laboratorio externo.

Se encontró que las condiciones óptimas tanto para la mezcla de reacción de PCR, como para el programa de amplificación fueron: concentración de 2mM de cloruro de magnesio (MgCl₂), 100 ng/uL de ADN, 10% de aditivo, temperatura de anillado de iniciadores de 65°C y 30 ciclos en la reacción, verificado en un gel de agarosa al 2%. Por lo tanto, se estandarizaron los parámetros de la reacción de PCR convencional que permitirían la detección de la mutación del gen *HTT* en la

enfermedad de Huntington para su respectiva validación y caracterización específica en geles de poliacrilamida.