

NOTA TÉCNICA N°20

Noviembre 2025



# Expresión génica Fundamento y utilidad

Elaborado por:  
Áreas Asistencia Técnica & I+D+i

# Introducción



En los últimos años, la biología molecular ha avanzado de forma vertiginosa, permitiéndonos no solamente utilizarla como una herramienta diagnóstica para la detección de patógenos específicos, sino también para estudiar los mecanismos celulares que explican respuestas fisiológicas, inmunológicas, reproductivas y hormonales.

La transcriptómica, una de estas herramientas, corresponde al estudio del conjunto completo de ARN transcritos (copia de una secuencia de ADN a una molécula de ARN) en una célula o tejido en un momento determinado. La **expresión génica**, por su parte, es el proceso mediante el cual se detecta y cuantifica uno o varios productos funcionales específicos (normalmente ARN, aunque eventualmente también pueden ser proteínas) que evidencian o se asocian a una respuesta celular o tisular.

Estas herramientas nos permiten no sólo identificar qué genes están activos, sino también comprender cómo responden o se comportan de forma integrada en diferentes condiciones fisiológicas, ambientales o patológicas.



# Definiciones

## Transcripción reversa

La **transcripción reversa** es un proceso biológico en el cual una enzima denominada transcriptasa reversa utiliza una molécula de ARN como molde para sintetizar una molécula de ADN. Este proceso es fundamental en el ciclo de vida de los retrovirus, como el VIH, y también es utilizado ampliamente en biología molecular para generar ADNc a partir de ARN (Purves, 2004). Esta técnica es **muy utilizada en ADL para la detección de patógenos mediante RT-PCR, así como para el estudio de expresión génica.**

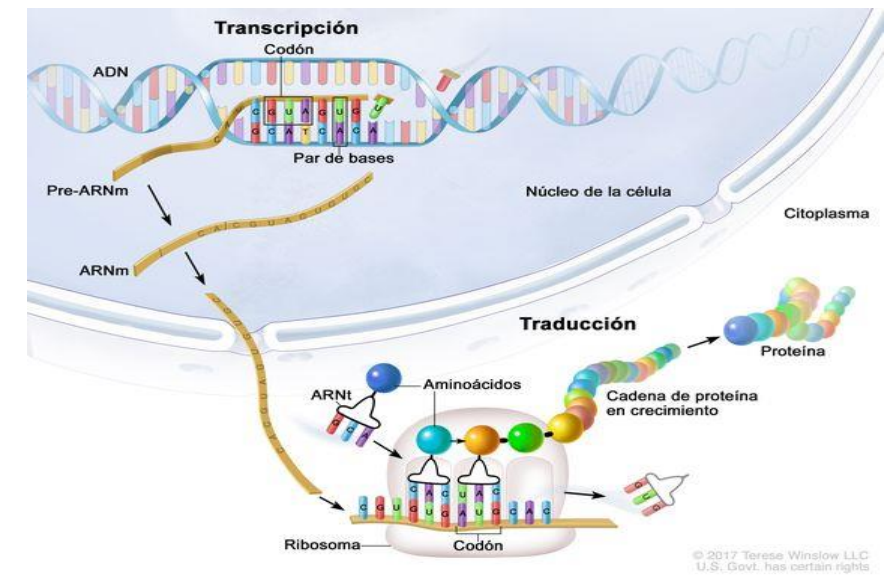
## Análisis de expresión génica

La **expresión génica** es un método utilizado para cuantificar la expresión relativa de un gen en diferentes condiciones experimentales, es decir, permite determinar “cuánto cambia” la expresión de un gen bajo ciertas circunstancias controladas (Livak, 2001).

# Dogma central de la biología molecular

El dogma central de la biología molecular es un concepto fundamental que describe el flujo de la información genética en las células. En esencia, establece que la información fluye del ADN al ARN y luego a las proteínas. Este flujo se lleva a cabo mediante los procesos de transcripción (ADN a ARN) y traducción (ARN a proteína).

Durante la transcripción, una porción de ADN que codifica un gen específico se copia en un ARN mensajero (ARNm) en el núcleo de la célula. Posteriormente, el ARNm lleva la información genética del ADN al citoplasma, donde ocurre la traducción. Durante la traducción, se elaboran las proteínas usando la información almacenada en la secuencia de ARNm (Alberts, 2022).



**Figura 1.** Transcripción y traducción a partir de una secuencia de ADN.

# Transcripción de ADN a ARN

La **transcripción** es el proceso por el cual la información de un gen se utiliza para generar un producto funcional, como una proteína. Su objetivo es producir una copia de ARN de la secuencia de ADN de un gen. En el caso de los genes codificantes, la copia de ARN, o transcrito, contiene la información necesaria para generar un polipéptido (una proteína o la subunidad de una proteína). Los transcritos eucariontes necesitan someterse a algunos pasos de procesamiento antes de traducirse en proteínas. Este proceso de “edición” del ARNm primario se denomina *splicing* o empalme, que consiste en retirar los “intrones” o “regiones no codificantes” del ARNm y unir los “exones” o “regiones codificantes”, para formar un ARNm maduro. Esta etapa de empalme puede darse de muchas formas, por lo que a partir de un solo ARNm se pueden codificar miles de proteínas distintas (Berger, 2006).

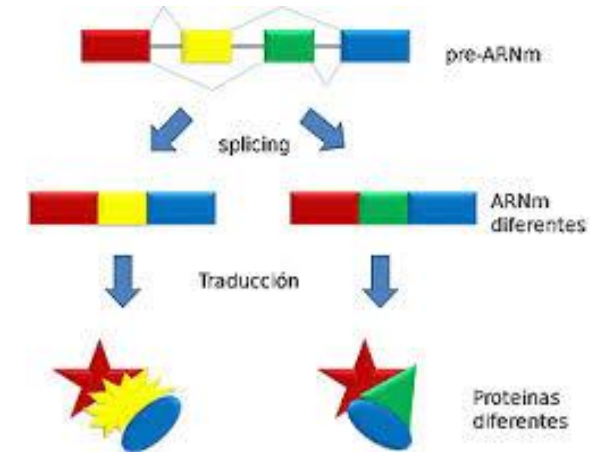


Figura 2. Proceso de *splicing* o empalme de ARNm primario.

# Método de $2^{-\Delta\Delta Ct}$

El método más usado para calcular la expresión génica de un gen de interés es el método del  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ , el cual permite determinar cuánto varía la expresión de un gen de interés en una muestra experimental en comparación con una muestra control, normalizada por la expresión de un gen de referencia (Livak, 2001). Para este método, se utiliza la técnica de qPCR para determinar los valores de Ct o *cycle threshold*, es decir, el número de ciclos de amplificación que necesita una muestra para superar el umbral de detección (Figura 3).

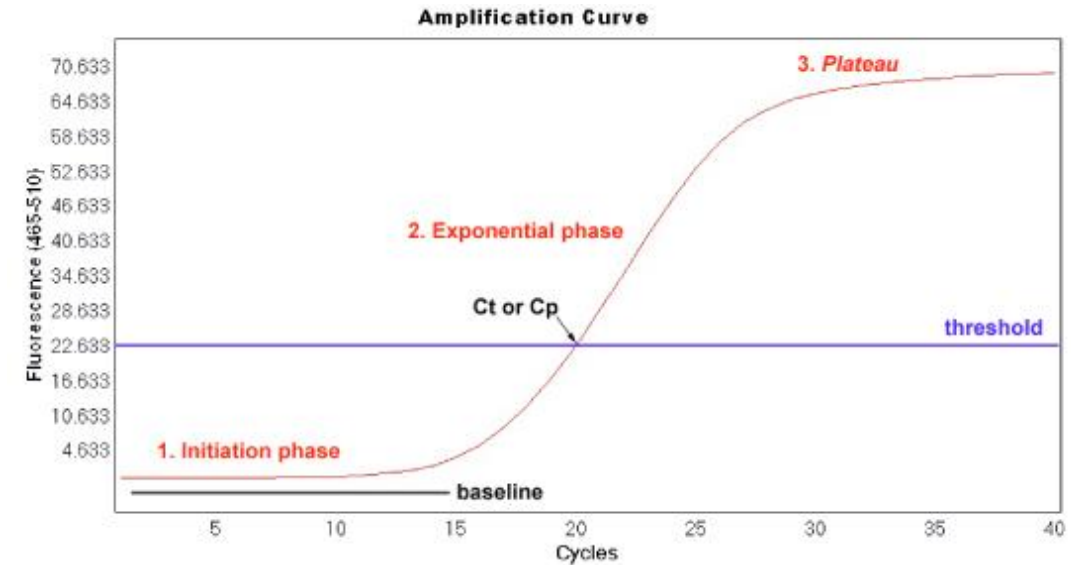
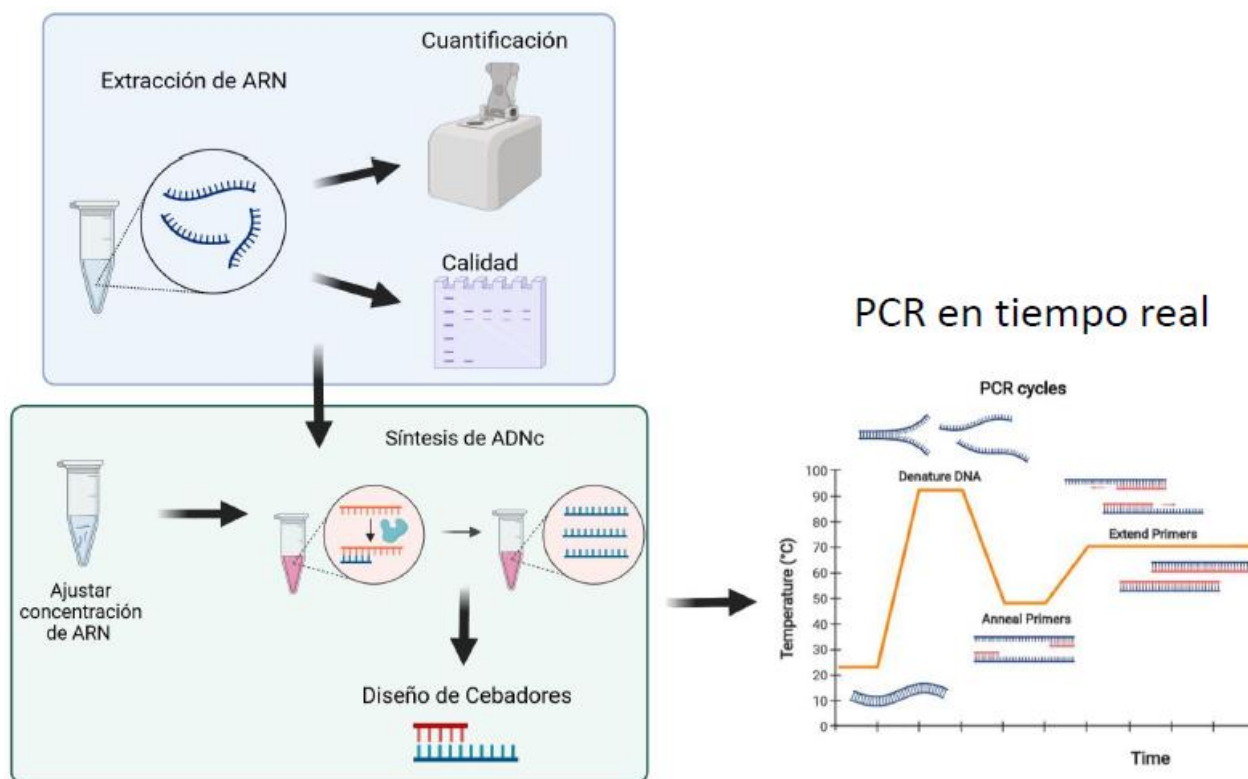


Figura 3. Valor de Ct de una muestra obtenida mediante qPCR.

# ¿Cómo obtenemos el valor de $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ?



**Figura 4.** Preparación de muestras para el cálculo de expresión génica.

Lo primero que se debe realizar es extraer ARN desde un grupo de muestras de interés y al menos una muestra control. Estas deben ser cuantificadas, para luego generar el ADNc utilizando la transcriptasa reversa. La cantidad de ARN mínimo debe ser entre 0,5 y 1  $\mu\text{g}$  final para la síntesis de ADNc.

Una vez obtenido el ADNc, se procede con la técnica de qPCR, en la cual se utilizan cebadores específicos para él o los genes de interés durante la marcha analítica, junto con los cebadores que amplifican él o los genes de referencia.

# ¿Cómo obtenemos el valor del cambio relativo de la expresión génica ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ )?

Los genes de referencia más utilizados para estudios en salmónidos son **ELF1**, **18S**, **ACTB**, **B2M**, **G6PDH**, **MHC I** y **LPL**, siendo los dos primeros los más estables y frecuentes (Jorgensen, 2005). Una vez obtenidos los valores de Ct de todas las muestras y controles, se procede de la siguiente forma:

**Cálculo de  $\Delta Ct$ :** Ct (gen) – Ct (calibrador).

**Cálculo de  $\Delta\Delta Ct$ :** (muestra tratada) y  $\Delta Ct$  (muestra control).

**Cálculo de  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ :** Corresponde al cambio relativo en la expresión génica entre la muestra tratada y la muestra control. Por ejemplo, un valor de  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  de 3 significa que la expresión del gen en la muestra tratada es el triple de la expresión en la muestra control (Livak, 2001).

En resumen, el método  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  es una herramienta útil para analizar los cambios en la expresión génica relativa utilizando qPCR. Proporciona una forma sencilla de comparar la expresión de un gen entre diferentes muestras, lo que permite a los investigadores identificar los cambios en la expresión génica que pueden estar relacionados con diferentes condiciones experimentales o enfermedades (Rao, 2013).

# Ejemplo (casos ADL)

La Figura 5, muestra un ejemplo de análisis de expresión génica, donde se analizó el gen IL-1 $\beta$  en salmónidos a lo largo de varias semanas. Estos peces fueron tratados con una dieta especial y se analizó el cambio de expresión de IL-1 $\beta$  en riñón anterior, de peces tratados y no tratados (control), luego de exponerlos a una bacteria patógena. Se observa cómo, a partir de T3, aumenta la expresión de esta citoquina, alcanzando un *peak* en T4, para posteriormente bajar a valores normales, posiblemente cuando el cuadro patológico ya se estaba resolviendo. El análisis de expresión génica, así como el cálculo y las gráficas para visualizar diferencias estadísticas entre la expresión de uno o varios marcadores, son realizados en ADL mediante el uso de R (lenguaje de programación estadístico de código abierto).

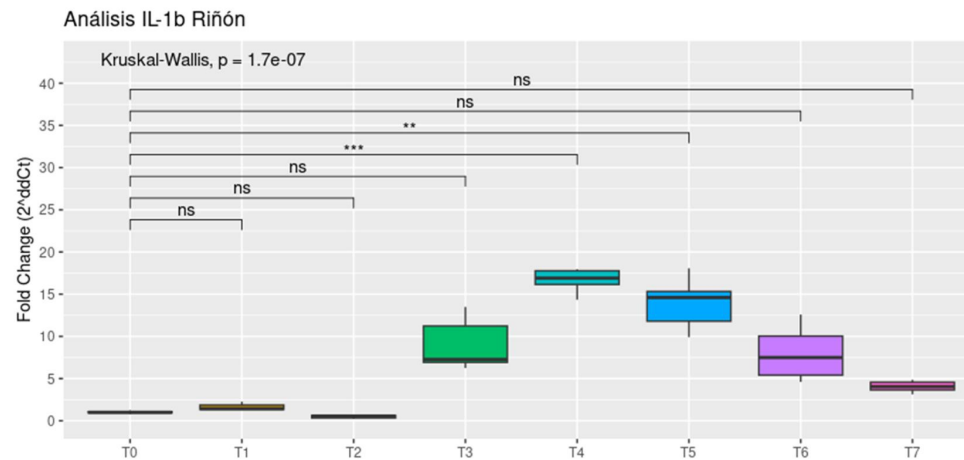


Figura 5. Ejemplo de análisis de expresión génica.

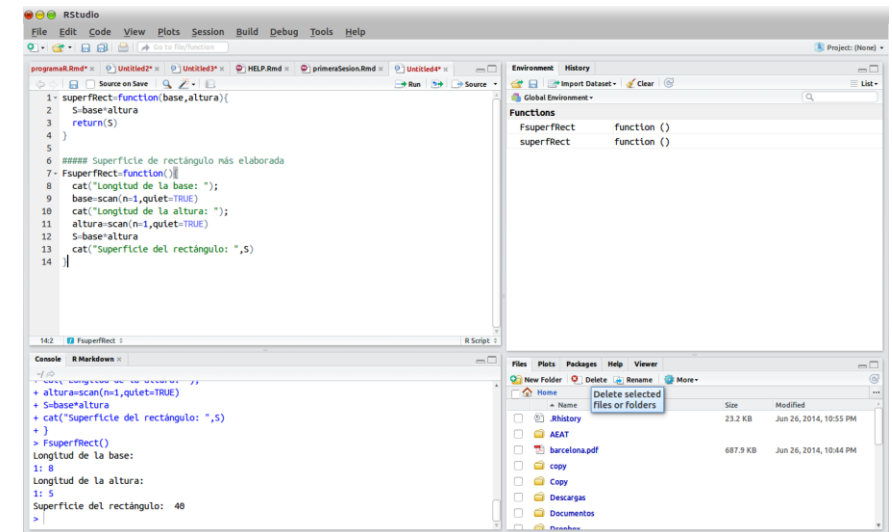
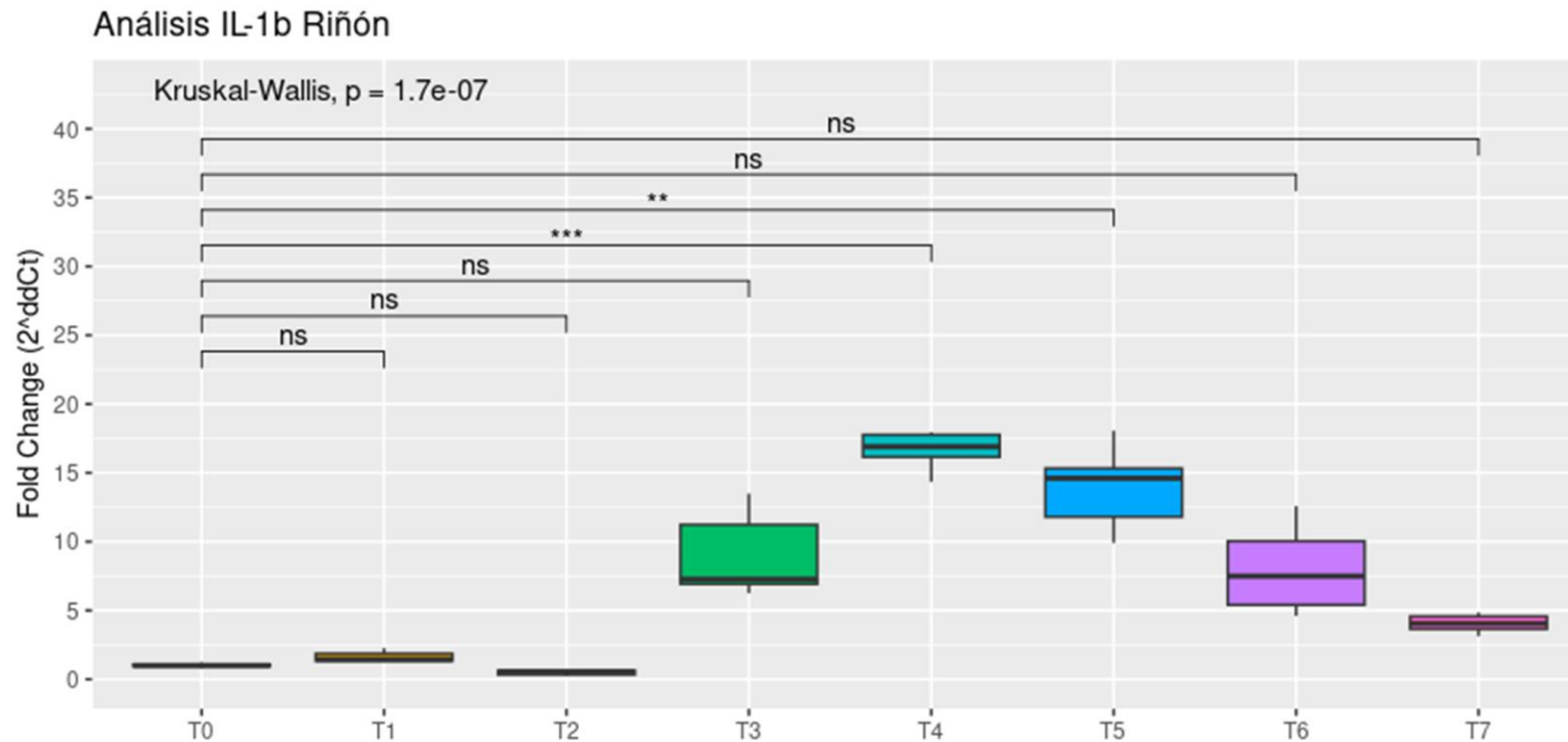


Figura 6. Programación en R, mediante plataforma Rstudio.

# Ejemplo de análisis de expresión génica



La figura muestra un ejemplo de análisis de expresión génica, donde se analizó el gen IL-1 $\beta$  en salmónidos a lo largo de varias semanas. Los peces fueron tratados con una dieta especial y se analizó el cambio de expresión de IL-1 $\beta$  en riñón de peces tratados y no tratados (control) tras exponerlos a un patógeno. Se observa desde T3 un aumento en la expresión de la IL-1 $\beta$  con *peak* en T4 y, posteriormente, normalizarse, posiblemente, al resolverse el cuadro patológico.

## Comentarios finales

En definitiva, recomendamos el uso de esta técnica cuando no existen métodos o no disponemos de métodos alternativos para medir una proteína de interés, como podría ser un ELISA.

La expresión génica permite determinar o estimar la cantidad relativa de un transcrito, asumiendo que este, posteriormente, se traduce a proteína y luego en la activación de funciones metabólicas de interés, como, por ejemplo, las relacionadas con respuesta inmune. También sirve para intentar determinar si una ruta metabólica está funcionalmente activa, siendo una buena alternativa a los métodos químico-analíticos convencionales o de rutina.

# Referencias

1. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. y Walter, P. (2002). Posttranscriptional controls (Controles postranscripcionales). En Molecular biology of the cell (4ta ed.). Nueva York, NY: Garland Science. Consultado en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26890/>.
2. Berger, Shanna. (2006). Eukaryotic transcription (Transcripción eucarionte). En Transcription and RNA polymerase II. Consultado en <http://www.chem.uwec.edu/Webpapers2006/sites/bergersl/pages/eukaryotic>.
3. Purves, W. K., Sadava, D. E., Orians, G. H. y Heller, H.C. (2004). Transcription: DNA-directed RNA synthesis (Transcripción: síntesis de ARN dirigida por ADN). En Life: the science of biology (Vida: la ciencia de la biología) (7° ed., págs. 237-239). Sunderland, MA: Sinauer Associates.
4. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-Delta Delta C(T)</sup> Method. Methods. 2001 Dec;25(4):402-8. doi: 10.1006/meth.2001.1262. PMID: 11846609.
5. Rao X, Huang X, Zhou Z, Lin X. An improvement of the 2<sup>^(-delta delta CT)</sup> method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis. Biostat Bioinforma Biomath. 2013 Aug;3(3):71-85. PMID: 25558171; PMCID: PMC4280562.