



Universidad del Sureste
Escuela de Medicina

Materia: Genética

Químico: Hugo Nájera Mijangos

**Cuadro comparativo: Northern blot, Southern blot, Western blot y
PCR**

Alumna: Guadalupe Elizabeth González González

Lugar y fecha

Comitán de Domínguez Chiapas a 07/11/2020.

Southern Blot	Western Blot	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)
<p>➤ (detección de secuencias específicas de DNA)</p> <p>La técnica consiste en tratar el ADN con enzimas de restricción (enzimas que cortan el ADN por secuencias específicas), tras lo cual se separan los fragmentos mediante electroforesis en un gel de agarosa quedando separados según el tamaño de los fragmentos de ADN. Después de la electroforesis el gel se trata para desnaturalizar el ADN que se transfiere a un filtro de nitrocelulosa o nylon mediante un sistema de vacío, sobre el que se fija con luz ultravioleta ("crosslinker" o calor, una vez tratado el ADN tiene cargas negativas) y por último se expone la membrana a sondas complementarias (hibridación) de la cadena que deseamos buscar marcadas radioactivamente o con digoxigenina-biotina, las sondas quedarán fijadas al fragmento de ADN del que son complementarias lo que nos confirma que el ADN de la banda correspondiente es efectivamente el que se busca.</p>	<p>➤ (detección de proteínas específicas con anticuerpos)</p> <p>SIRVE PARA CONOCER :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Niveles de expresión 2. Isoformas 3. Modificaciones postraduccionales 4. Tiempo de vida media y degradación 5. Localización subcelular <p>La gran ventaja de este método es que permite reconocer el peso molecular de la proteína en estudio y tiene mayor fiabilidad que otros métodos, aunque no aporta información sobre su localización en el contexto celular y tisular de la lesión</p>	<p>➤ Es una técnica introducida en 1985, capaz de generar grandes cantidades de copias de un determinado fragmento de ADN a partir de mínimas cantidades del mismo (amplificación) en pocas horas.</p> <p>La PCR se basa en la replicación del ADN por los enzimas denominadas ADN polimerasas (se utiliza la Taq polimerasa porque es termoestable). Estas enzimas producen copias de ADN complementario a partir de una cadena de ADN de cadena simple (tras desnaturalización del ADN mediante calor) pero sólo pueden empezara copiar añadiendo nucleótidos a una cadena de ácidos nucleicos que debe estar previamente acoplada al ADN de cadena simple (el iniciador o "primer").</p>

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	Northern blot
<p>La técnica consiste en utilizar dos oligonucleótidos de secuencia conocida que se acoplen específicamente a los márgenes de una determinada secuencia que queremos amplificar, después se añade la Taq polimerasa, nucleótidos y MgC 12 (indispensable para la reacción).</p> <p>La Taq polimerasa actuará copiando la secuencia de ADN contenida entre los iniciadores. El proceso se repite múltiples veces mediante la sucesión de ciclos en los que se varía la temperatura de la muestra, así al aumentar la temperatura de la muestra se produce la desnaturalización del ADN de doble cadena.</p> <p>Luego se vuelve a disminuir la temperatura con lo que se produce la hibridación o emparejamiento (annealing) de los oligonucleótidos (primers) con sus secuencias complementarias específicas; tras la hibridación actúa la Taq polimerasa (extensión).</p> <p>Esta secuencia constituye un ciclo, se suceden posteriormente varios ciclos en los que se separa el ADN de doble cadena recién copiado al aumentar el calor y al enfriarse la muestra vuelven a producirse hibridación y extensión de manera que la secuencia de ADN contenida entre los iniciadores se replica de modo exponencial, lo que permite obtener una gran cantidad de copias de la secuencia elegida partiendo de muy escasa cantidad de ADN inicial. En cada ciclo se dobla la cantidad de ADN del ciclo anterior, según la fórmula 2^n (donde "n" es el número de ciclos)</p>	<p>A diferencia del Southern blot, no es necesaria la digestión con enzimas de restricción y, aunque el ARN es una cadena única, su estructura secundaria compleja hace necesario el uso de técnicas de desnaturalización, generalmente con formaldehído y formamida. Así, una vez extraído el ARN se aplica electroforesis en geles de 1% de agarosa-formaldehído.</p> <p>El ARN puede ser teñido con colorantes como el naranja de acridina. Posteriormente es transferido a membranas de nylon especiales (Hybond-N+). Estos "blots" son posteriormente hibridados con sondas de ADN complementario marcado (por ejemplo, con ^{32}P para involucrina). La cantidad del marcador obtenido puede ser medida mediante un densitómetro de láser aplicado al autorradiograma obtenido.</p>

Referencias

- *Técnicas de Biología Molecular*. (s. f.). Northern blot, Southern blot, Western blot ,PCR. Recuperado 7 de noviembre de 2020, de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/23IngenGenet1_23749.pdf
- TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR EN EL DIAGNÓSTICO EN DERMATOLOGÍA. (2018, 1 diciembre). Biología molecular, técnicas de diagnóstico. https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v09_sup1/tecnicas.htm