



BIOLOGIA MOLECULAR EN LA CLINICA.

CUADRO COMPARATIVO

DOCENTE: QFB. HUGO NÁJERA MIJANGOS.

PRESENTA: XIMENA ALEJANDRA GOMEZ BRIONES

COMITÁN DE DOMÍNGUEZ CHIAPAS, 11 DE NOVIEMBRE
DE 2020.

	Definición	Procedimiento	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Nrothern Blot	Técnica de detección de moléculas de ácido ribonucleico (ARN).	Se toma la mezcla de ARN y se somete a una electroforesis en gel a fin de separar los fragmentos de acuerdo con su tamaño. Tras esto, se transfiere el contenido del gel, ya resuelto, a una membrana cargada positivamente en la que se efectúa la hibridación de una sonda molecular marcada radiactiva o químicamente.	<ul style="list-style-type: none"> • La capacidad de definir el tamaño de la cadena de ARN. • Capacidad de observar los productos del empalme alternativo • Posibilidad de usar sondas con homología parcial. • Habilidad de medir el tamaño y la calidad del ARN antes de realizar la inmovilización en la membrana 	Degradación de muestra por ribonucleasas (endógenas de muestra o a través de contaminación ambiental), que puede evitarse con una adecuada esterilización de los materiales como el uso de inhibidores de RNAsas como el dietilpírocarbonato.
Southern Blot	Método de biología molecular que permite detectar la presencia de una secuencia de ADN concreta en una mezcla compleja de este ácido nucleico.	<p>Técnica de electroforesis en gel de agarosa con el fin de separar los fragmentos de ADN de acuerdo a su longitud y, después, una transferencia a una membrana en la cual se efectúa la hibridación de la sonda.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Extracción del ADN. 2. Digestión del ADN con una endonucleasa de restricción 3. Electroforesis en gel de agarosa 4. Preparación de un ensayo de Southern ("Southern blot") 5. Hibridación con sonda radioactiva 6. Detección de los RFLPs mediante autorradiografía 7. Reensayar el resultado del Southern con sondas adicionales 	<ul style="list-style-type: none"> • No se realiza una electroforesis previa sino que se carga en la membrana soporte la muestra a analizar, y se la somete a la reacción colorimétrica. • Permite una estimación cualitativa y cuantitativa del antígeno. 	La degradación de la muestra por RNAsas (endógenas de la muestra o a través de contaminación ambiental) que puede ser evitada por una adecuada esterilización de los materiales así como el uso de inhibidores de RNAsas como el dietilpírocarbonato.

<p>PCR (reaccion en cadena de la polimerasa)</p>	<p>Técnica de laboratorio utilizada para amplificar secuencias de ADN. El método utiliza secuencias cortas de ADN llamados cebadores para seleccionar la parte del genoma a amplificar.</p>	<p>La temperatura de la muestra se sube y se baja repetidamente para ayudar a la enzima de replicación del ADN a duplicar la secuencia del ADN que está siendo copiada. Con esta técnica se pueden producir un billón de copias de la secuencia en estudio en sólo unas pocas horas.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Inicio 2. Desnaturalización 3. Alineamiento o unión del cebador 4. Extensión o elongación de la cadena 5. Elongación final 6. Conservación 	<ul style="list-style-type: none"> • Determinación de múltiples dianas en una reacción 	<ul style="list-style-type: none"> • Baja sensibilidad.
<p>western Blot</p>	<p>Técnica de laboratorio utilizado para detectar una proteína específica en una muestra de sangre o tejido.</p>	<p>El método implica el uso de electroforesis en gel para separar las proteínas de la muestra. Las proteínas separadas se transfieren del gel a la superficie de una membrana. La membrana se expone a un anticuerpo específico contra la proteína en estudio.</p> <p>La unión del anticuerpo se detecta usando un marcador radiactivo o químico. Un Western Blot se utiliza a veces para diagnosticar enfermedades.</p> <p>El material de la muestra y correrlo en un gel, y luego transferir las proteínas resueltas en una pieza especial de una membrana - de papel, si se quiere - y luego se expone el papel a una sonda que contine un anticuerpo contra la proteína específica de interés.</p> <p>Debido a que el anticuerpo está marcado con una molécula que podremos visualizar, podemos preguntarnos si la proteína de interés se expresa en esta muestra y tener una idea de la concentracion, así como la composicion y el tamaño es la proteína.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Alta sensibilidad 0,1 nanogramos de proteína. • Diagnóstico eficaz temprano. • Múltiples muestras y tipos de estudio. 	<p>-Costo elevado.</p> <p>-Variabilidad reacciona en las bandas según el ensayo , el tipo de muestras, las condiciones técnicas, hacen variar la subjetividad de interpretaciones.</p> <p>-Problema en las proteínas de fácil degradación.</p> <p>-Es tardado (inadecuado transferencia) bandas sesgadas, descolorido, incluso múltiple</p>

Bibliografía

Alejandra Serrato Díaz¹, L. F. (2018). PCR: reacción en cadena. *Herramientas moleculares aplicadas en ecología*, 45-67.

Fernández, P. L. (5 de AGOSTO de 2017). Técnicas de hibridación. *Hospital Clínic/IDIBAPS/ Universidad de Barcelona*, págs. 67-98.