



**UNIVERSIDAD DEL SURESTE**

**MEDICINA HUMANA**

**BIOLOGÍA MOLECULAR EN LA CLÍNICA**

**CUADRO SINOPTICO TECNICAS DE BIOLOGIA**

**MOLECULAR**

**DR. NAJERA MIJANGOS HUGO**

**PRESENTA: MARTÍN PÉREZ DURÁN**

**GRADO: 8**

**GRUPO: ``A``**

**COMITÁN DE DOMÍNGUEZ CHIAPAS A 27 DE OCTUBRE DEL 2020**

# TECNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR

## PCR

Es una prueba de diagnóstico que permite detectar un fragmento del material genético de un patógeno.

Es la amplificación de ADN in vitro por medio de la proliferación de cadena de ADN utilizando un termociclador

El proceso de PCR incluye 3 pasos:  
1.-Desnaturalización.  
2.-Apareamiento.  
3.-Polimerización.

Aplicaciones: detección de agentes infecciosos como: Hepatitis B y C, VPH, VIH. Análisis de ADN de cualquier organismo vivo o muerto

### Ventajas

- Pequeña muestra de ADN se obtiene la cantidad necesaria a estudiar.
- Se puede utilizar para clonar, secuenciar y análisis.
- Se puede amplificar el ADN de cualquier organismo vivo y muerto.

### Desventajas

- Se puede reproducir solamente parte del genoma.
- Se necesitan "primers" específicos que sean complementarios al fragmento que se desea sintetizar.
- puede tener errores al sintetizar el ADN.
- Puede contaminarse con otro ADN.

## SOUTHERN BLOT

Sirve para detectar por hidrolisis la presencia de una porción de ADN en una muestra.

Se utilizan sondas de DNA (moléculas de DNA marcadas con radioactividad y con una secuencia conocida) para identificar qué bandas del gel contienen secuencias complementarias a la de la sonda

Aplicación: puede ser usada para el diagnóstico molecular de algunas enfermedades génicas, ejemplo de ellas serían el Síndrome de Angelman, Síndrome de Prader-Willi y Síndrome X frágil.

### Ventajas

- Alta sensibilidad y especificidad.
- Detecta 1 molécula de ADN de HPV por célula.

### Desventajas

- Procesamiento largo y difícil.
- No permite detectar secuencias de ADN de tipos desconocidos.

## NORTHERN BLOT

Es una técnica de laboratorio que se utiliza para detectar una secuencia de ARN específica en un muestra de sangre o de tejido. Las moléculas de ARN en una muestra se separan por tamaño mediante electroforesis en gel.

Se utilizan sondas de RNA (moléculas de RNA marcadas con radioactividad y con una secuencia conocida) para identificar qué bandas del gel contienen secuencias complementarias a la de la sonda.

Aplicación: mostrar sobreexpresión de oncogenes y la desregulación de genes supresores tumorales en c. cancerosas.

### Ventajas

- Detecta pequeños cambios en la expresión de genes que los microarrays no pueden identificar.
- Muestra de ARN requiere un mínimo de procesamiento.
- Permite reconocer el análisis de mutaciones y alteraciones del RNAm.

### Desventajas

- Degradación de la muestra por ARNasas endógenas de la muestra o a través de la contaminación ambiental.
- Costo elevado.
- Resultado depende de la sonda utilizada.
- Se requiere aprox 20ug de ARN total.

## WESTERN BLOT

Es una técnica analítica usada para detectar proteínas específicas en una muestra determinada. Mediante una electroforesis en gel se separan las proteínas

Se utilizan anticuerpos marcados con radioactividad para identificar cuál es la banda que presenta la proteína que me interesa localizar

Procedimiento:  
1.-Preparación de muestra.  
2.-Electroforesis en gel.  
3.-Transferencia electroforética a una membrana.  
4.-Hibridación del anticuerpo.  
5.-Detección de las bandas.

### Ventajas

- Alta sensibilidad, y especificidad.
- Diagnóstico eficaz temprano.
- Múltiples muestras y tipos de estudio.

### Desventajas

- Costo elevado.
- Problema en las proteínas de fácil degradación.
- Es tardado (inadecuada transferencia) bandas sesgadas, descoloridas o incluso múltiples.

## ELISA

Es una técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable.

Tipos de ensayo: ELISA directo, indirecto, ELISA inhibidor o competitivo, ELISPot, ELISA sándwich

Utilidades diagnósticas: cáncer, Hepatitis B, detección de anticuerpos antiplaquetarios, detección de VIH.

### Ventajas

- Poca cantidad de muestra.
- Menor tiempo.
- Más estables; mayor período de validez, etc.

### Desventajas

- Anticuerpo primario debe de ir marcado.
- Uso de anticuerpo secundario puede dar lugar a una reactividad cruzada.

## Referencia bibliográfica

- Fernández. Nora (2007). ``Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)``. Técnicas inmunológicas. <http://www.higiene.edu.uy/parasito/trabajos/elisa.pdf>
  
- Lequin, R (2005). ``Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)``. Clinical Chemistry. 51:12 2415-2418.
  
- Veiga. A (2013). ``Western Blot; Introducción y Optimización``. Abcam. Discover more. <https://docs.abcam.com/pdf/events/spanish-wb-webinar.pdf>
  
- Leonart. M, Sánchez. R & cols (2005) ``Técnicas de hibridación, clonación, y secuenciación de ácidos nucleicos en el diagnóstico anatomopatológico``. Departamento de Anatomía Patológica, Clínica Puerta de Hierro, Madrid. <http://www.conganat.org/seap/revista/v30-n3/13.pdf>
  
- CORVALÁN. A (2002). ``Biología molecular en Infectología. Parte I: Desarrollo y metodologías``. Rev Chil Infect (2002); 19 (1): 14-24. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v19n1/art03.pdf>