



**Universidad del Sureste
Escuela de Medicina**



Materia: biología molecular en la clínica

Tema: mapa conceptual de técnicas de biología molecular

Presenta:

Karen Alejandra Morales Moreno

Q.F.B. Nájera Mijangos Hugo

TECNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR

SOUTHERN BLOT

La característica fundamental de esta técnica es la transferencia de tales moléculas de DNA obtenidas por restricción desde el gel a una membrana. Esta transferencia ha sido llamada Southern

Permite la detección simultánea de varias secuencias diana de distintos tamaños con una única hibridación. Típicamente se utilizan sondas radiactivas.

Pasos: Antes de poder realizar el Southern blot propiamente dicho hay que extraer y purificar el ADN.

Existen protocolos de extracción especializados para muchos tipos de tejidos diferentes o tipos celulares. Una vez obtenido un ADN purificado se corta con enzimas de restricción para obtener fragmentos de diferentes tamaños.

Una vez tenemos el ADN digerido con enzimas y en cantidad suficiente se corre una electroforesis en un gel de agarosa para separar los diferentes fragmentos de ADN según su tamaño.

NORTHERN BLOT

Es una técnica de detección de moléculas de ácido ribonucleico (ARN) de una secuencia dada dentro de una mezcla compleja.

Aplicaciones

Observar un patrón particular de expresión genética entre tejidos, órganos, estadios del desarrollo, niveles de estrés ambiental, infecciones causadas por patógenos y durante el curso del tratamiento de las mismas.

Esta técnica se ha utilizado para mostrar la sobreexpresión de oncogenes y la desregulación de genes supresores tumorales en células cancerosas cuando son comparadas con tejidos normales

La detección del producto de la PCR se realiza normalmente mediante corrido electroforético.

PCR

Es una 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.

Pasos

Desnaturalización: Consiste en separar la doble hebra de ADN y convertirla en hebra sencilla. Típicamente se usa a una temperatura de 25°C – 95°, Por 15 a 40 segundos El tiempo depende del tamaño

Apareamiento: Los cebadores “primers” previamente diseñados, reaccionan con la hebra sencilla del ADN y se pega a lugares específicos por complementariedad de base. Por eso se deja bajar la temperatura.

polimeracion: Una polimerasa de ADN extiende los “primers” en el espacio comprendido entre ambos “primers”, y coloca dinucleotidos trifosfatados (dNTP’s) de 5’ a 3’ leyendo el ADN de 3’ a 5. de esta forma se sintetiza la secuencia complementaria de las hebras de ADN molde.