UNIVERSIDAD DEL SURESTE

MEDICINA HUMANA

ASIGNATURA: BIOLOGIA MOLECULAR EN LA CLINICA.

CATEDRATICO: QFB. Hugo Nájera Mijangos.

TECNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR

Alumno:

HÉCTOR ALEJANDRO TRUJILLO CORDERO.

8° SEMESTRE GRUPO “A”

TURNO MATUTINO

COMITAN DE DOMÍNGUEZ, CHIAPAS A 30 DE OCTUBRE DEL 2020.

TECNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR.

Separación electroforética de moléculas de DNA

- se separan las biomoléculas en disolución cuando se ven sometidas a un campo eléctrico
- Electroforesis de campo pulsante (separación de DNA cromosomal)
- Electroforesis para RFLP (sepración entre 100 a 10000 nt)
- Geles de secuenciación (separación de bandas con 1 nt de diferencia)

Secuenciación de DNA por el método de Sanger

- No acepta elongación de la cadena de nucleótidos por la DNA polimerasa
- se basa en la polimerización del ADN y el uso de dideoxinucleótidos
- contienen las cuatro desoxinucleótidas estándar (dATP, dGTP, dCTP y dTTP)
- dsDNA molde
- 4 desoxiribonucleótidos (dNTPs)
- cebador de DNA
- DNA polimerasa

Southern Blot

FUNCION:

- consiste en tratar el ADN con enzimas de restricción
- detección de secuencias específicas de DNA

1. Aislamiento de DNA
2. Cortar con enzimas de restricción
3. Separar fragmentos por electroforesis
4. Desnaturalizar el DNA
5. Transferir a membrana de nitrocelulosa o nylon
6. Hibridar con sonda específica
7. Revelar con placa de Rayos X ó pantalla de fosforimager

Northern blot

- detección de secuencias específicas de RNA, A nivel de transcriptoma (RNA)
- técnica de separación de ARN dependiendo de su tamaño.

1. Aislamiento de RNA
2. Desnaturalizar el RNA
3. Separar por electroforesis desnaturalizante
4. Transferir a membrana de nitrocelulosa o nylon
5. Hibridar con sonda específica
6. Revelar con placa de Rayos X ó pantalla de fosforimager

Western Blot

- detección de proteínas específicas con anticuerpos
- utilizado para detectar una proteína específica en una muestra de sangre o tejido.
- La detección de proteínas sirve para conocer:

1. Niveles de expresión
2. Isoformas
3. Modificaciones postraduccionales
4. Tiempo de vida media y degradación
5. Localización subcelular

PCR Reacción en Cadena de Polimerasa

- El nivel de PCR se eleva cuando hay inflamación en todo el cuerpo
- técnica de laboratorio utilizada para amplificar secuencias de ADN.
- utiliza secuencias cortas de ADN llamados cebadores para seleccionar la parte del genoma a amplificar.
- se pueden producir un billón de copias de la secuencia
- Se utiliza de forma rutinaria en la clonación de ADN, el diagnóstico médico y el análisis forense de ADN.