

**Nombre del alumno: Arguello Tovar
Avilene del Rocío**

Nombre del profesor: Nájera Hugo

**Nombre del trabajo: Ensayo:
“técnicas moleculares”.**

Materia: Genética Humana

Grado: 3ero “B”

Facultad de medicina

Comitán de Domínguez Chiapas a 29 de octubre del 2021

Técnicas moleculares

Durante este ensayo hablaremos acerca de las técnicas moleculares que sirven para analizar ácidos nucleicos y para detectar, e identificar tanto microorganismos, como diferentes genotipos dentro de una misma especie y genes de resistencia al tratamiento farmacológico. Todas estas técnicas necesitan un paso previo de extracción de ADN o ARN; una vez que estas han sido extraídas deben purificarse de forma adecuada para evitar la presencia en la muestra de inhibidores o sustancias que contaminen y que impidan la correcta realización de la técnica posterior.

La extracción del ADN es el paso más crucial en todo el proceso relacionado con la biología molecular. Se suelen utilizar kits comercializados que incluyen el protocolo específico para la extracción. Los métodos de extracción de ADN se caracterizan por la lisis de la célula, la inactivación de las enzimas nucleasas celulares y la separación de los ácidos nucleicos de los demás restos celulares. Pueden ser de diferentes tipos: rotura mecánica (trituration, lisis hipotónica), por tratamiento químico (detergentes, agentes caotrópicos, reducción con tioles) o por digestión enzimática (proteínasa K).

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Es una reacción química que los biólogos moleculares utilizan para amplificar (crear copias) fragmentos de ADN y/o bien son utilizadas como forma rápida y precisa para la detección de ciertas enfermedades infecciosas y cambios genéticos, estas detectan el ADN o ARN de un patógeno (organismo que causa una enfermedad) o células anormales en una muestra. Durante una prueba de PCR, una pequeña cantidad de material genético de una muestra se copia varias veces. El proceso de copia se conoce como amplificación. Si en la muestra hay patógenos, la amplificación hace que sean mucho más fáciles de ver. Algunos nombres alternativos son: reacción en cadena de la polimerasa (RCP), rtPCR, PCR de transcripción inversa, qPCR, PCR cuantitativa, PCR en tiempo real. Las pruebas PCR se usan para, diagnosticar ciertas enfermedades infecciosas, identificar el cambio genético que puede causar un enfermedad y encontrar cantidades pequeñas de células cancerosas que podrían pasar desapercibidas en otros tipos de pruebas. Se hacen al tomar una muestra de sangre, saliva, moco o tejido. La muestra tiene su propio ADN y

posiblemente el ADN de un patógeno o de una célula cancerosa, se introduce en una máquina especial y se añade una enzima llamada polimerasa a la muestra. Esto hace que la muestra produzca copias, el proceso de copia se repite varias veces. Después de una hora, se hacen miles de millones de copias. Si hay un virus o un agente patógeno, eso se indica en la máquina.

La electroforesis. Es una técnica que emplean los científicos en el laboratorio utilizada para separar el ADN, el ARN, o moléculas o proteínas en base a su tamaño y carga eléctrica. Se utiliza una corriente eléctrica para mover las moléculas y que se separen a través de un gel. Los poros del gel actúan como un colador, permitiendo que las moléculas más pequeñas se muevan más rápido que las grandes. Las condiciones utilizadas durante la electroforesis se pueden ajustar para separar moléculas en el rango de tamaño que se desee. Por ejemplo en el proyecto genoma humano se llevó a cabo con algo que se llama electroforesis capilar, mediante la separación de ADN en piezas más cortas y su separación en geles de electroforesis que permite a los patrones de A, C, T y G ser caracterizados. También son muy importantes en la investigación de proteínas, y en la investigación de mutaciones genéticas, porque cuando las proteínas o el ADN están mutados, son con frecuencia más o menos largos, y por lo tanto, aparecen en un gel de electroforesis de manera diferente de lo normal.

Southern Blot. Es una técnica de laboratorio utilizada para detectar una secuencia específica de ADN en una muestra de sangre o tejido. Una enzima de restricción se utiliza para cortar una muestra de ADN en fragmentos que se separan mediante electroforesis en gel. Los fragmentos de ADN son transferidos del gel a la superficie de una membrana. La membrana se expone a una sonda de ADN marcada con un marcador radiactivo o químico. Si la sonda se une a la membrana, entonces la secuencia de la sonda está presente en la muestra. Southern blot se utiliza cuando, en primer lugar se separan los distintos fragmentos de ADN acuerdo al tamaño en un gel a lo largo de un campo eléctrico. Los fragmentos más grandes, migran a la parte superior y los fragmentos más pequeños se van a encontrar en la parte inferior. Cuando se termina de correr el gel, se realiza la transferencia a una membrana. Es como hacer un sandwich: gel, membrana en la parte superior y muchas toallas de papel. Lo que se busca es permitir que una solución haga que el ADN que se encuentra en el gel pase a la membrana.

Northerblot. Es una técnica de laboratorio que se utiliza para detectar una secuencia de ARN específica en una muestra de sangre o de tejido. Los fragmentos de ARN son

transferidas del gel a la superficie de una membrana. La membrana se expone a una sonda de ADN marcada con una etiqueta radiactiva o química. Si la sonda se une a la membrana, entonces la secuencia complementaria de ARN está presente en la muestra. Normalmente se aísla el conjunto de moléculas de ARN de una muestra de células o de tejido, y después se facilita la migración del ARN en un gel por electroforesis. De esta manera se colocan los fragmentos más pequeños en la parte inferior y los fragmentos más grandes en la parte superior. Una vez que hemos terminado con lo que llamamos correr el gel, se aplica una membrana sobre el gel y se transfieren, bien por un gradiente salino o por transferencia electroforética, las moléculas de ARN, del gel a la membrana, la cual normalmente es de nitrocelulosa. Este producto transferido a nitrocelulosa se va a ver como un pedazo de papel blanco.

Secuenciación del ADN. Es conocida como aquel que determina el orden de los cuatro componentes básicos químicos, llamados “bases”, que forman la molécula de ADN. La secuencia les informa a los científicos la clase de información genética que se transporta en un segmento específico de ADN. Por ejemplo, los científicos pueden usar la información de las secuencias para determinar qué tramos de ADN contienen genes y qué tramos transportan instrucciones regulatorias, que activan o desactivan genes.

En conclusión, entendemos que desde la finalización del Proyecto del Genoma Humano, las mejoras tecnológicas y la automatización han aumentado la velocidad y reducido los costos al punto en que genes individuales pueden secuenciarse de manera rutinaria, y en algunos laboratorios se pueden secuenciar más de 100 billones de bases al año, y un genoma completo puede secuenciarse por tan sólo unos cuantos miles de dólares. Muchas de estas nuevas tecnologías se desarrollaron con el apoyo del Programa de Tecnología Genómica del NHGRI y sus concesiones para Tecnología de Secuenciación de ADN Avanzada. Siendo así importantes para el estudio de los genes en nuestra vida.

Bibliografía

Christopher P. Austin, M. (s.f.). *National Human Genome*. Obtenido de <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Electroforesis>

National Human Genome. (27 de septiembre de 2019). Obtenido de <https://www.genome.gov/es/about-genomics/fact-sheets/Secuenciacion-del-ADN>

Stacie Loftus, P. (s.f.). *National Human Genome*. Obtenido de <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Southern-Blot>

Stacie Loftus, P. (s.f.). *National Human Genome*. Obtenido de <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Northern-blot>