



PASIÓN POR EDUCAR

**Nombre del alumno:**

**Nancy Paulina Arguello Espinosa**

**Nombre del profesor:**

**Q. Hugo Nájera Mijangos**

**Nombre del trabajo:**

**Mapa conceptual “Técnicas Moleculares”**

**Materia:**

PASIÓN POR EDUCAR

**Genética Humana**

**Grado:**

**3er Sem, Grupo “A” Medicina Humana**

Comitán de Domínguez Chiapas a 29 de Octubre del 2021

# Técnicas Moleculares

Extracción y análisis de ADN/ARN

## PROCESO

### Analítica

### Pre-analítica

Obtención y preparación preliminar de la muestra inicial

Transporte a laboratorio

### Post-analítica

Validación técnica del informe analítico

Aplicación de procedimientos

Extracción de ácidos nucleicos

## ALGUNOS TIPOS

### Electroforesis

Migración de solutos  
sólidos iónicos

Influencia de  
campo magnético

#### De frente móvil

Componentes en toda la disolución,  
se determina la posición del frente de  
avance o frontera

#### Zonal

Muestra en forma de  
mancha y sus componentes  
migran por el disolvente

#### Continua

Aplicada en una zona

Suministro continuo

### PCR

Detección de un fragmento  
de material genético

Fragmentos de ADN del que  
se espera sacar muchas copias

ADN molde

"Primers" 2 secuencias cortas de  
ADN que se unen al ADN molde

Cebadores

20 nucleótidos y da  
inicio a la PCR

A T C G

Bloques de la nueva  
copia resultante

Nucleótidos

Enzima clave que utilizando el ADN molde  
realiza la copia mediante la integración de  
nucleótidos de manera secuencial

ADN polimerasa

## Northern blot

Secuencias precursoras o intermediarias

Evaluar propiedades de expresión

Determinar el tamaño (Wang/Yang)

Las muestras se desnaturalizaron a 95°C durante 1 min, luego se cargaron en el gel y se corrieron aplicando 12.5 v/cm, en cámara de electroforesis

ARN separado se transfirió a membrana de Nylon +, en cuarto frío 15V durante 60min e inmovilización en membrana durante 1h

Se precalentó el tampón de hibridación a 65°C, se introdujo la membrana con ARN inmovilizados y se incubó 30min

Membrana con ARN a 37°C durante toda la noche

Permite detectar pequeños RNAs

**Separación del RNA**

**Transferencia e inmovilización del RNA**

**Pre-hibridación**

**Hibridación**

## Southern blot

Transferidos a una membrana de nitrocelulosa o nylon

Permite identificar fragmentos de ADN separados por electroforesis en gel

**Extracción de ADN**

ADN extraído tratado con una endonucleasa de restricción

Corta el ADN bicatenario en donde tenga una secuencia característica

**Digestión de ADN**

La enzima endonucleasa corta el ADN en secuencia 5'-GGCC-3'

**Electroforesis en gel de agarosa**

Moléculas de ADN, que poseen carga negativa, migran hacia el electrodo positivo

Velocidad reducida por la matriz de agarosa

Separación continua de fragmentos de ADN de acuerdo con su tamaño

**Ensayo de Southern**

DNA monocatenario resultante se transfiere a la superficie de una membrana de nailon, realizando así una copia o "calco"

Se retira de la hibridación y se lava dos veces por 5min

**Deteccion de ARN**

**Hibridación de sonda radioactiva**

Ensayo de Southern se incuba en una disolución que contiene una sonda radiactiva de locus único, bajo condiciones de temperatura y concentración de sales que favorezcan la hibridación

**Detección de RFLPs mediante autorradiografía**

La membrana de nailon se coloca, una vez lavada, junto a una película de rayos X dentro de una caja que las aísla de la luz

Registra las posiciones donde hay desintegración radiactiva

Autoradiografía

## Referencias

Estandarización de un protocolo para Northern blot no radioactivo usado en la detección de pequeños RNA en células Vero. (s.f.). Natalia Campillo-Pedroza, Juan Pablo Franco Salazar, Juan Carlos Gallego- Gómez, Recibido: enero 21 de 2015 Aprobado: octubre 23 de 2015, Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v17n2/v17n2a14.pdf>.

Mónica Gail. (s.f.). Gaceta Médica "PCR", Disponible en: <https://gacetamedica.com/investigacion/como-funcionan-y-en-que-se-diferencian-las-pcr-y-los-test-rapidos-de-coronavirus/>.

SOUTHERN BLOT. (s.f.). Disponible en: <https://bioted.es/protocolos/SOUTHERN-BLOT-ANALISIS.pdf>.

Southern blot - hibridación Southern. (s.f.). Disponible en: <https://www.naturalista.mx/places/wikipedia/Southern>.