



**Mi Universidad**

## Esquemas.

*Nombre del Alumno: Rudy Ángel Osvaldo Vázquez Zamorano*

*Nombre del tema: Métodos en biología molecular*

*Nombre de la Materia: Biología Molecular*

*Nombre del profesor: Químico. Alberto Alejandro Maldonado López*

*Nombre de la Licenciatura: Medicina Humana*

*Semestre: 4 A*

# ELECTROFORESIS

La electroforesis se define como el movimiento o dispersión de partículas tras ser sometidas a un campo eléctrico. generalmente se realiza en una matriz o gel y suele utilizarse para separar fragmentos de ADN, ARN, moléculas o proteínas en base a su tamaño y carga eléctrica.

Moléculas cargadas se mueven a través de un gel cuando pasa una corriente eléctrica a través de él

Se aplica corriente eléctrica a través del gel para que un extremo del gel tenga una carga positiva y el otro extremo tenga una carga negativa

Moléculas migran hacia la carga opuesta.

Gel consiste en una matriz permeable, un poco como un tamiz, a través del cual las moléculas pueden viajar cuando pasa una corriente eléctrica a través de él.

Moléculas más pequeñas migran a través del gel más rápidamente y, por lo tanto, viajan más lejos que los fragmentos más grandes que migran más lentamente y, por lo tanto, recorrerán una distancia más corta. como resultado, las moléculas se separan por tamaño.

# ELISA

Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) utiliza como sus siglas lo indican una enzima como marcador para mediar la formación de complejos antígeno-anticuerpo

Existen diversas variaciones al método de ELISA para detectar y cuantificar ligandos de alto peso molecular, el marcador enzimático que se emplea en estos análisis se conjuga con un ligando

## TIPOS DE PRUEBAS DE ELISA

### ELISA directo

- 1º El antígeno se inmoviliza sobre una placa
- 2º Se añade un anticuerpo primario marcado con una enzima que se unirá al antígeno de interés
- 3º Se añade el sustrato que al reaccionar con la enzima proporcionará una señal visible que permitirá la detección y/o cuantificación del antígeno de interés

### Indirecto

- 1º El antígeno se inmoviliza sobre una placa
- 2º Se añade un anticuerpo primario sin marcar que se une al antígeno de interés
- 3º Se añade un anticuerpo secundario marcado con una enzima que se unirá al anticuerpo primario
- 4º Se añade el sustrato que al reaccionar con la enzima proporcionará una señal visible que permitirá la detección y/o cuantificación del antígeno de interés

### Tipo sándwich

- 1º El anticuerpo de captura se inmoviliza sobre la placa
- 2º Se añade la muestra que contiene el antígeno de interés que se unirá al anticuerpo de captura
- 3º Se añade el anticuerpo de detección que se unirá al antígeno unido a su vez al anticuerpo de captura
- 4º En caso de que el anticuerpo de detección vaya conjugado a una enzima, procederemos directamente con el 5º paso. En caso contrario (que es lo más habitual en los ELISA tipo sándwich), será necesario añadir un anticuerpo secundario marcado con una enzima que se unirá al anticuerpo de detección.
- 5º Se añade el sustrato que al reaccionar con la enzima proporcionará una señal visible que permitirá la detección y/o cuantificación del antígeno de interés

### Competitivo

- 1º El antígeno de referencia se inmoviliza sobre la placa
- 2º Por otro lado, un exceso de anticuerpo primario sin marcar se incubó con la muestra que contiene el antígeno de interés, dando lugar a la formación de complejos antígeno-anticuerpo
- 3º Se añade la mezcla antígeno-anticuerpo a la placa, donde el antígeno de referencia competirá con el antígeno de la muestra por unirse al anticuerpo
- 4º Se lava la placa eliminando los complejos antígeno-anticuerpo solubles
- 5º Se añade a la placa un anticuerpo secundario marcado con una enzima que se unirá al anticuerpo primario anclado al antígeno de referencia. 6º Se añade el sustrato que al reaccionar con la enzima proporcionará una señal visible que será inversamente proporcional a la cantidad de antígeno de interés presente en la muestra

