UDS

Mi Universidad

Nombre del Alumno: Brissa Del Mar Antonio Santos

Nombre del tema: Tecnicas

Parcial: Cuarto

Nombre de la Materia: Biologia molecular

Nombre del profesor: Alberto Alejandro Maldonado Lopez

Nombre de la Licenciatura: Medicina

Semestre: cuarto

:Ensayo

ELECTROFORESIS

técnica de laboratorio que se usa para separar moléculas de ADN, ARN o proteínas en función de su tamaño y carga eléctrica. Se usa una corriente eléctrica para mover las moléculas a través de un gel o de otra matriz.

La **electroforesis en gel** es una técnica utilizada para separar fragmentos de ADN según su tamaño

Las muestras de ADN se cargan en pozos (ranuras) en un extremo de un gel y se aplica una corriente eléctrica para arrastrarlas a través del gel

Los geles para separar ADN suelen estar hechos de un polisacárido llamado agarosa, que se consigue como hojuelas secas pulverizadas.

A nivel molecular, el gel es una matriz de moléculas de agarosa que se mantienen unidas por puentes de hidrógeno y que forman pequeños poros.

Antes de agregar las muestras de ADN, el gel debe colocarse en una **cámara**. Uno de los extremos de la cámara se conecta a un electrodo positivo y el otro extremo se conecta a un electrodo negativo. El cuerpo principal de la cámara, donde se coloca el gel, se llena con solución amortiguadora con sales que puede conducir la corriente.

El extremo del gel que tiene los pozos se coloca hacia el electrodo negativo. El extremo sin pozos (hacia donde migrarán los fragmentos de ADN) se coloca hacia el electrodo positivo

se aplica energía eléctrica a la cámara y empieza a fluir corriente a través del gel. Los grupos fosfato de su esqueleto de azúcares-fosfato le otorgan una carga negativa a las moléculas de ADN, por lo que comienzan a moverse a través de la matriz de gel hacia el polo positivo

Una vez que los fragmentos se han separado, podemos examinar el gel y saber el tamaño de las bandas que se encuentran en él. Cuando un gel se tiñe con un pigmento que se une al ADN y se coloca bajo luz UV, los fragmentos de ADN brillarán, lo cual nos permite ver el ADN presente en distintos lugares a lo largo del gel.

Cada banda contiene un gran número de fragmentos de ADN del mismo tamaño que han viajado juntos a la misma posición

Al comparar una banda en una muestra con el marcador de peso molecular, podemos determinar su tamaño aproximado.

HIBRIDACION

Southern

- El ADN es digerido con una enzima de restricción y los fragmentos son separados por tamaños mediante electroforesis en un gel
- los fragmentos de ADN de doble cadena son desnaturalizados mediante un proceso químico separando las dos hebras componentes del ADN en sus cadenas sencillas
- el ADN inserto en el gel es transferido a un filtro de nitrocelulosa, con lo que en el filtro queda representada una réplica de la disposición de los fragmentos de ADN presentes en el gel. A continuación el filtro se incuba durante un tiempo con la sonda marcada (radiactivamente o con un fluorocromo); durante la incubación la sonda se va hibridando con las moléculas de ADN de cadena sencilla de secuencia complementaria (o muy parecida).

Northern

- se utiliza para identificar las cadenas de **ARN** de secuencia semejante al ADN que se usa como sonda; a diferencia del tipo Southern que se utiliza para identificar ADN, el método Northern sirve para identificar ARN
- El ARN se extrae y se fracciona en tamaños variables mediante una electroforesis en gel de poliacrilamida en unas condiciones que mantengan las cadenas de ARN en estado desnaturalizado
- El proceso continúa de forma semejante a la hibridación de tipo Southern. El método del Northern se utiliza muy frecuentemente para realizar estudios de expresión génica; para conocer qué genes están activos formando ARN mensajero en qué condiciones, en qué tejidos o tipos celulares.