

# UNIVERSIDAD DEL SURESTE

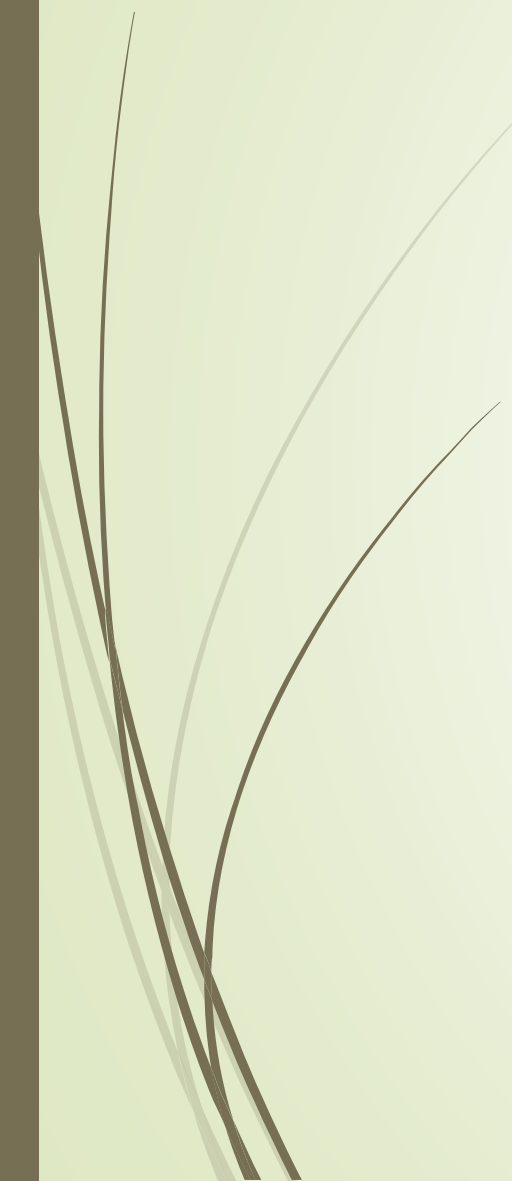
PCR, southern blot y northern blot



**NOMBRE DEL ALUMNO:**  
Oscar Miguel Sánchez Arguello

**SEMESTRE: 8° A**

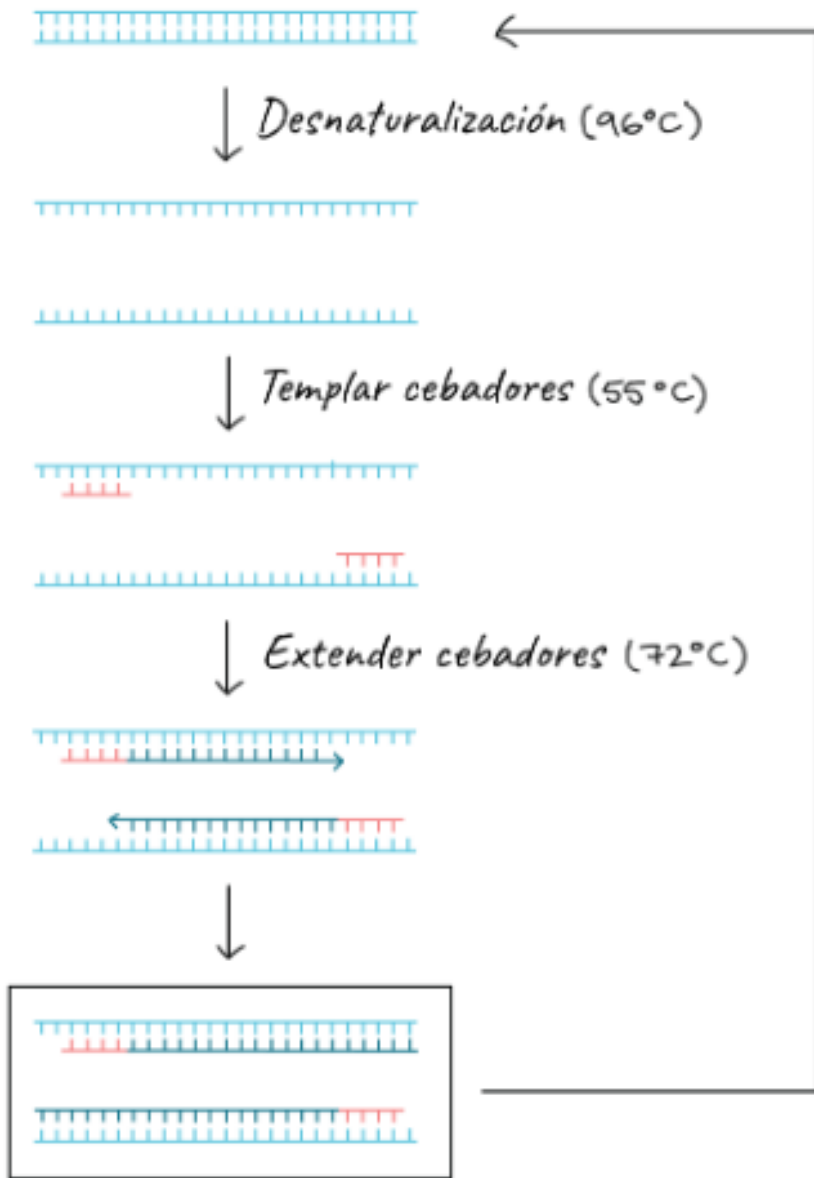


# PCR

- técnica de laboratorio utilizada para amplificar secuencias de ADN
  - El método utiliza secuencias cortas de ADN llamados cebadores para seleccionar la parte del genoma a amplificar.
- 

- 
- 
- ▶ La temperatura de la muestra se sube y se baja repetidamente para ayudar a la enzima de replicación del ADN a duplicar la secuencia del ADN que está siendo copiada.
  - ▶ Con esta técnica se pueden producir un billón de copias de la secuencia en estudio en sólo unas pocas horas.

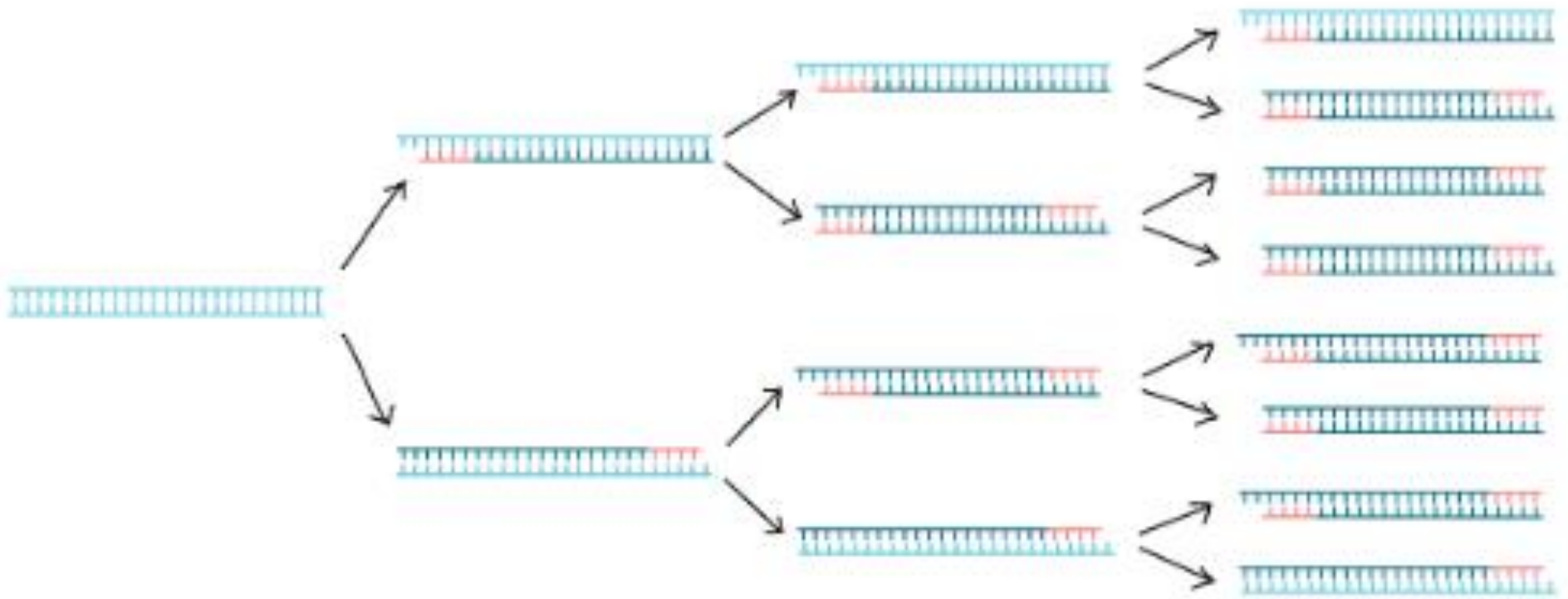




Repetir  
25-35 X

- 1. Desnaturalización (96 °C):**  
la reacción se calienta bastante para separar, o desnaturalizar, las cadenas de ADN. Esto proporciona los moldes de cadena sencilla para el siguiente paso.
- 2. Templado (55 - 65C°):**  
la reacción se enfría para que los cebadores puedan unirse a sus secuencias complementarias en el molde de ADN de cadena sencilla.
- 3. Extensión (72 °C):**  
la temperatura de la reacción se eleva para que la *Taq* polimerasa extienda los cebadores y sintetice así nuevas cadenas de ADN.

Resultado después de un ciclo  
# de moléculas de ADN duplicado



Ciclo:

1

2

3



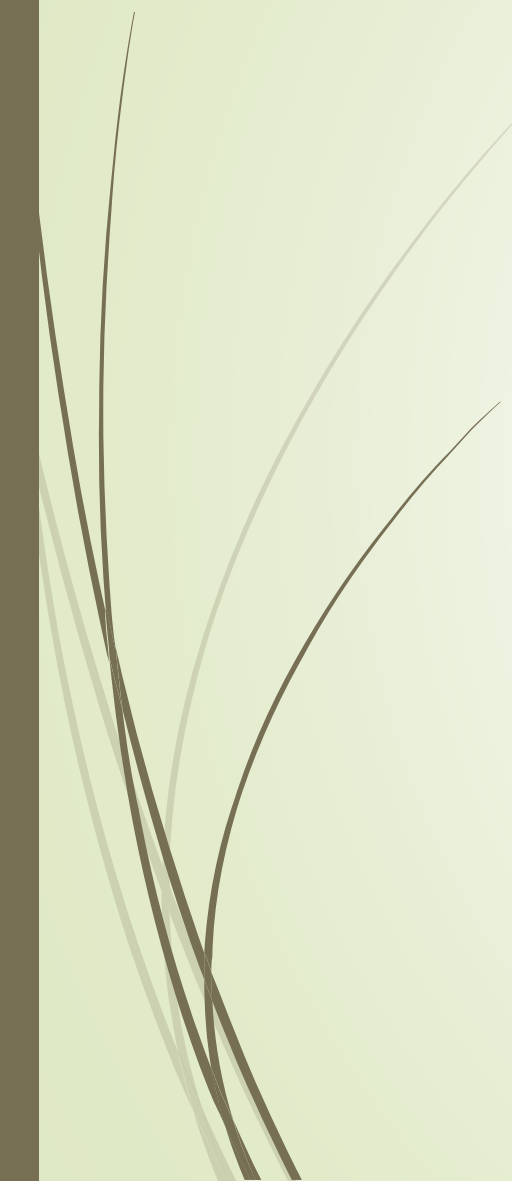
# aplicaciones

- ▶ Test de paternidad
- ▶ Detección de enfermedades hereditarias
- ▶ Comparación de la expresión genética
- ▶ Clonamiento de genes
- ▶ Análisis de ADN antiguo






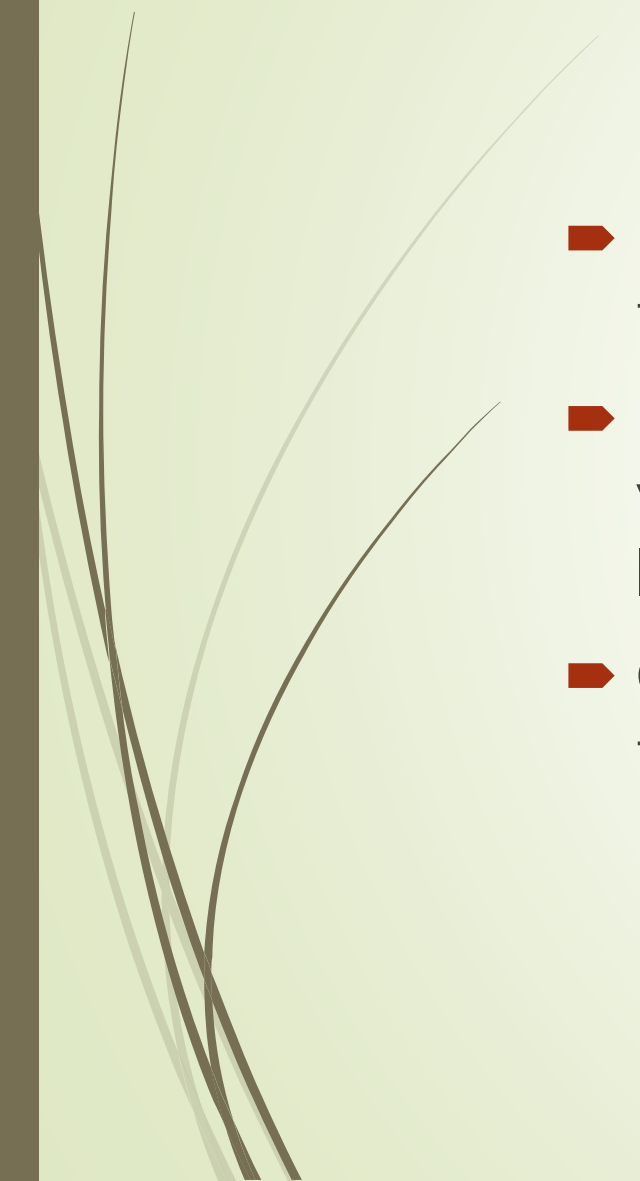


# southern blot

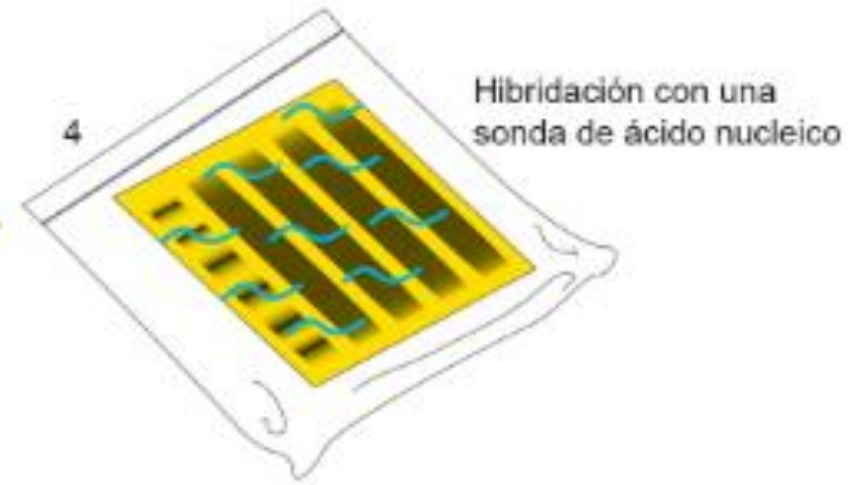
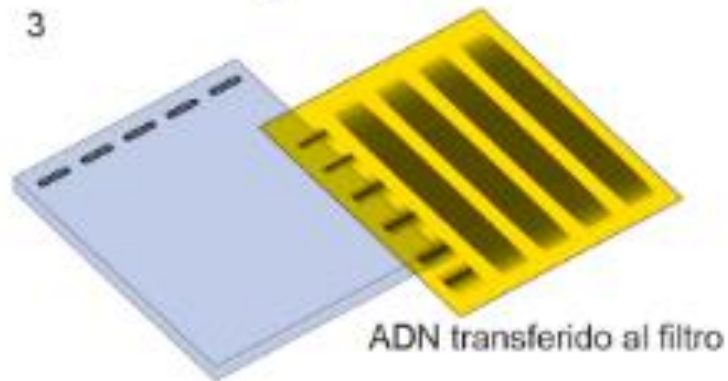
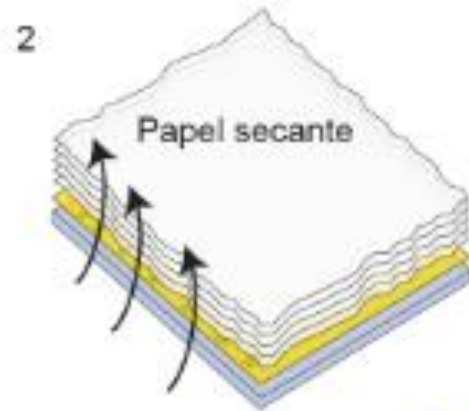
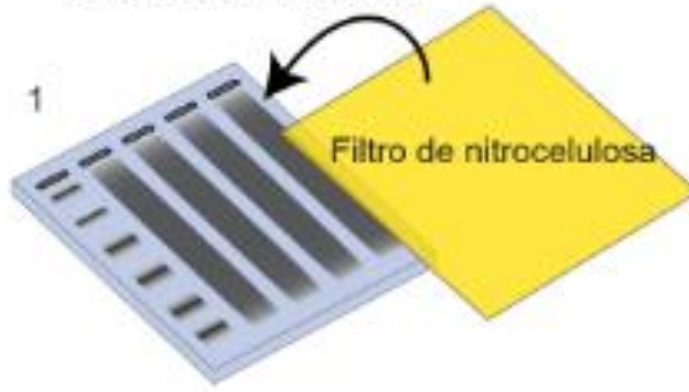
- ▶ técnica de laboratorio utilizada para detectar una secuencia específica de ADN en una muestra de sangre o tejido.
  - ▶ Una enzima de restricción se utiliza para cortar una muestra de ADN en fragmentos que se separan mediante electroforesis en gel.
  - ▶ Los fragmentos de ADN son transferidos del 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.

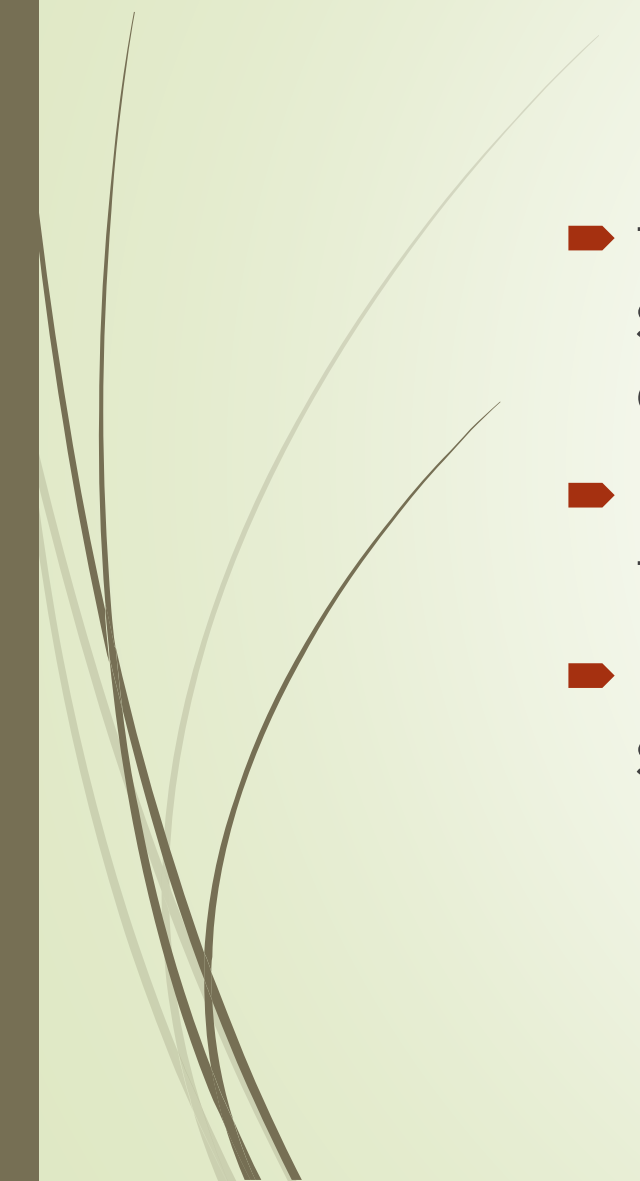
- 
- 
- 1. separan los distintos fragmentos de ADN acuerdo al tamaño en un gel a lo largo de un campo eléctrico
  - Los fragmentos más grandes, migran a la parte superior y los fragmentos más pequeños se van a encontrar en la parte inferior.
  - Cuando se termina de correr el gel, se realiza la transferencia a una membrana.



Gel para electroforesis





# northern blot

- ▶ técnica de laboratorio que se utiliza para detectar una secuencia de ARN específica en un muestra de sangre o de tejido.
  - ▶ Las moléculas de ARN en una muestra se separan por tamaño mediante electroforesis en gel.
  - ▶ Los fragmentos de ARN son transferidas del gel a la superficie de una membrana.
- 

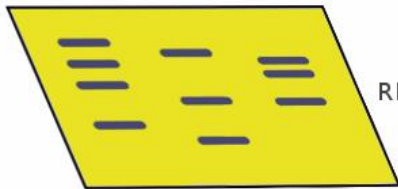
- 
- 
- La membrana se expone a una sonda de ADN marcada con una etiqueta radiactiva o química.
  - Si la sonda se une a la membrana, entonces la secuencia complementaria de ARN está presente en la muestra.

Sample

RNA Extraction

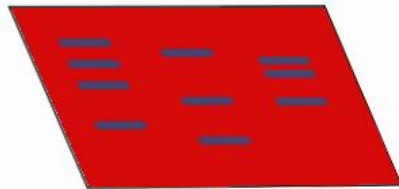


Electrophoresis

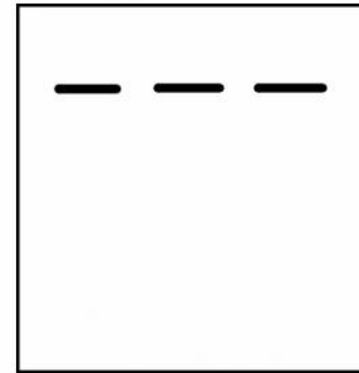
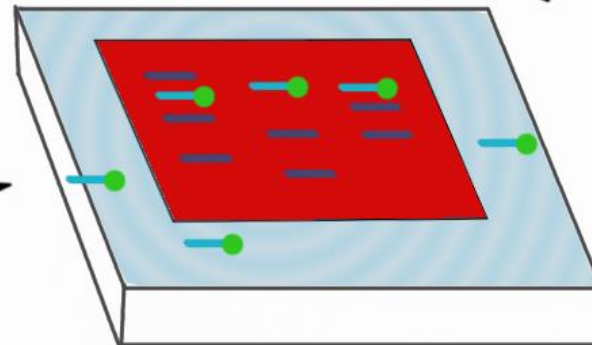


RNA separated by size

Northern Blotting  
(Transfer of RNA to membrane)



Labeled probes



Visualization of labeled  
RNA on X-ray film