

Sinaí Elizabeth López Nájera

Catedrático: Hugo Nájera Mijangos

Genética Humana.

Mapa Conceptual NORTHERN BLOOT Y SOUTHERN BLOOT

Grado: 3

Grupo: "C"

Comitán de Domínguez Chiapas a 12 de Noviembre de 2022.

NORTHERN BLOT

¿Que detecta el Northern blot?

Northern blot se utiliza para analizar moléculas de ARN. 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.

La técnica es una versión modificada del Southern Blotting, que se descubrió para el análisis de secuencias de ADN.

La detección de determinadas secuencias de ácidos nucleicos extraídos de diferentes tipos de muestras biológicas es fundamental en biología molecular, lo que hace imperativas las técnicas de blotting en el campo.

El principio es idéntico al de la transferencia Southern excepto por las sondas utilizadas para la detección, ya que la transferencia Northern detecta secuencias de ARN.

La prueba de Northern blot es un método de análisis de laboratorio que se utiliza para estudiar el ARN.

El principio de la transferencia Northern es el mismo que el de todas las demás técnicas de transferencia que se basan en la transferencia de biomoléculas de una membrana a otra. Las muestras de ARN se separan en geles según su tamaño mediante electroforesis en gel. Dado que los ARN son monocatenarios, estos pueden formar estructuras secundarias por apareamiento de bases intermoleculares. La separación electroforética de los segmentos de ARN se realiza así en condiciones desnaturalizantes. Los fragmentos de ARN separados se transfieren luego a una membrana de nailon. La membrana de nitrocelulosa no se usa porque el ARN no se une de manera efectiva a la membrana.

Northern blot inverso

En esta versión alternativa del método el ácido nucleico que actúa como sustrato (fijo en la membrana) está formado por fragmentos aislados de ADN, mientras que la sonda está formada por ARN obtenido de los tejidos y etiquetada con material radioactivo.

Esta variante es más compatible con el uso de un chip de ADN, que se ha convertido en práctica común en la parte final de la década de 1990 y la primera del siglo XXI. Ambas prácticas requieren la fijación de fragmentos de ADN como su hibridación con sondas de ARN celular. De esta manera el proceso inverso, aunque inicialmente era poco común, permitió que el northern blot evolucionara hasta tener un lugar en el desarrollo de los perfiles de expresión génica.

SOUTHERN BLOT

Southern blot es un método de laboratorio que se utiliza para estudiar el ADN. Específicamente, el ADN purificado proveniente de una muestra biológica (como sangre o tejido) se digiere mediante una enzima de restricción, y los fragmentos de ADN resultantes se separan mediante corriente eléctrica para hacerlos desplazar a través de un gel o matriz similar a un tamiz, que permite que los fragmentos más pequeños se desplacen más rápido que los fragmentos más grandes.

¿Qué es la prueba de Southern blot?

Southern blot es una forma de analizar moléculas el ADN. El protocolo fue desarrollado por Edward Southern. Cuando se realiza un Southern blot, en primer lugar se separan los distintos fragmentos de ADN acuerdo al tamaño en un gel a lo largo de un campo eléctrico.

Diagnóstico molecular de

El Southern Blot es una técnica que puede proveer información que puede ser usada para el diagnóstico molecular de algunas enfermedades génicas, ejemplo de ellas serían el Síndrome de Angelman, Síndrome de Prader-Willi y Síndrome X frágil. Esta técnica resulta ser la más sensible para el diagnóstico de algunas patologías como es el caso del Síndrome Angelman y el Síndrome de Prader-Willi. El diagnóstico consiste en la realización de un test de metilación mediante PCR por tratamiento con bisulfito, basándose en el ADN por medio del estudio de la metilación del locus PW71. Otra enfermedad que también puede ser diagnosticada por el Southern Blot es el Síndrome de X frágil, el uso de esta técnica para esta enfermedad permitirá cuantificar el número exacto de repeticiones y metilaciones, causantes de la enfermedad.

Pasos de Southern blot

1. Extracción del ADN
2. Digestión del ADN con una endonucleasa de restricción
3. Electroforesis en gel de agarosa
4. Preparación de un ensayo de Southern ("Southern blot")
5. Hibridación con sonda radioactiva
6. Detección de los RFLPs mediante autorradiografía.
7. Reensayar el resultado del Southern con sondas adicionales