



JUAN PABLO ABADIA LOPEZ

Q.F.B NAJERA MIJANGOS HUGO

MAPA CONCEPTUAL

GENÉTICA HUMANA

PASIÓN POR EDUCAR

3

B

Comitán de Domínguez Chipas a 12 de noviembre del 2023

Southern blot

Método de biología molecular que permite detectar la presencia de una secuencia de ADN concreta en una mezcla compleja de este ácido nucleico.

Extracción del ADN

habitualmente de la sangre.

Digestión del ADN

se trata con una endonucleasa de restricción, que es una enzima que corta el ADN bicatenario en donde tenga una secuencia característica.

La enzima que se usa más frecuentemente para el análisis legal es HaeIII, que corta el ADN en la secuencia 5'-GGCC-3'.

Electroforesis en gel de agarosa

Durante la electroforesis, las moléculas de ADN, que poseen carga negativa, migran hacia el electrodo positivo.

Al avanzar las moléculas de ADN, su velocidad de migración se ve reducida por la matriz del gel de agarosa.

Las moléculas menores se mueven más deprisa a través de los poros del gel que las de mayor tamaño.

se produce una separación continua de los fragmentos de ADN de acuerdo con su tamaño, de modo que los fragmentos más pequeños avanzan la mayor distancia con referencia al origen o punto de aplicación de la muestra.

ensayo de Souther

las moléculas de ADN separadas se desnaturalizan mientras permanecen en el gel de agarosa, impregnando éste con una disolución alcalina.

Tras la neutralización de esta, el ADN monocatenario resultante se transfiere a la superficie de una membrana de nailon, realizando así una copia o "calco" (la traducción más literal del inglés blot, conservando este sentido, es "secante").

Este proceso de desnaturalización y transferencia se conoce como método de Southern

Al igual que la aplicación de un secante a un papel con la tinta húmeda transfiere una réplica de la imagen del papel al secante, el "calco" del ADN en el gel a la membrana de nailon conserva la distribución espacial de los fragmentos de ADN conseguida en el gel como resultado de la electroforesis.

Hibridación con sonda radioactiva

Una sonda de locus único es una molécula pequeña de ADN o ARN capaz de hibridar (es decir, de formar un dúplex ADN-ADN o ADN-ARN) con el ADN de un fragmento de restricción concreto en el ensayo de Southern.

Detección de los RFLPs

Las posiciones de hibridación de la sonda radiactiva sobre la membrana del ensayo de Southern se detectan mediante autorradiografía.

En esta técnica, 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.

La película registra las posiciones donde hay desintegración radiactiva

NORTHERN BLOT

Utilizada para detectar secuencias específicas de ADN

Pasos

Digestión Enzimática:
ADN se corta con enzimas de restricción.

Subtopic Electroforesis:
Separación de fragmentos de ADN según su tamaño.

Transferencia:
Transferencia de ADN a una membrana.

Hibridación:
Sonda de ADN marcada se une a la secuencia específica.

Detección:
Revelado de la sonda para visualizar la secuencia deseada

Aplicaciones

Identificación de genes específicos.

Estudio de variaciones genéticas.

Análisis de patrones de expresión génica.

Limitaciones

Tiempo y trabajo intensivo.

Sensibilidad a la calidad de la sonda y las condiciones de hibridación.

Importancia

Herramienta clave en investigación genética.

Permite estudiar la presencia y abundancia de secuencias de ADN específicas.

Ejemplos

Diagnóstico de enfermedades genéticas.

Análisis de mutaciones.

PCR

(Reacción en Cadena de la Polimerasa)

Definición

Método de amplificación de ADN in vitro

Permite replicar secuencias específicas de ADN

Componentes básicos

ADN Molde:
Secuencia objetivo a replicar.

Primers:
Segmentos cortos de ADN que indican dónde empezar y terminar la replicación

ADN Polimerasa:
Enzima que sintetiza nueva cadena de ADN.

Pasos del Ciclo de PCR

Desnaturalización:
Calentamiento para separar las hebras de ADN.

Alineación de Primers:
Enfriamiento para permitir que los primers se unan al ADN molde

Extensión:
ADN polimerasa sintetiza nueva cadena complementaria.

Ciclos de Amplificación

Repetición de los pasos del ciclo.

Exponencialmente amplifica la cantidad de ADN.

Aplicaciones

Biología Molecular:
Clonación de genes.
Análisis de expresión génica.

Diagnóstico Médico:
Detección de enfermedades genéticas.
Identificación de patógenos.

Tipos

PCR Convencional:
Método estándar.

PCR en Tiempo Real (qPCR):
Permite cuantificar la cantidad de ADN en tiempo real.

PCR Anidada:
Mayor especificidad al repetir la amplificación.

Importancia

Herramienta esencial en genética y biología molecular.

Facilita el estudio detallado de secuencias genéticas.

