



Carlos Alberto Hernández Meza

Q.F.B Nájera Mijangos Hugo

Genética humana

PASIÓN POR EDUCAR

Grado: 3

Grupo: B

PCR

La reacción en cadena de la polimerasa es una técnica para hacer muchas copias de una determinada región de ADN in vitro, (en un tubo de ensayo en lugar de un organismo).

La PCR depende de una ADN polimerasa termoestable, la Taq polimerasa y requiere de cebadores de ADN diseñados específicamente para la región

En la PCR, la reacción se somete repetidamente a un ciclo de cambios de temperatura que permiten la producción de muchas copias de la región blanco.

La PCR tiene muchas aplicaciones en la investigación y en la practica. Se utiliza de manera rutinaria en la clonación de ADN, el diagnostico medico y el análisis forense de ADN.

Southern Blot

El southern blot es una técnica empleada en los laboratorios de biología molecular que se usa para detectar secuencias de ADN específicas a partir de un preparado molecular.

Antes de poder realizar el southern blot propiamente dicho hay que extraer y purificar el ADN. Esta puede ser tanto de tejido animal, vegetal, etc.

Una vez obtenido un ADN purificado se corta con enzimas de restricción para obtener fragmentos de diferentes tamaños

Si hay poco ADN muchas veces se aumenta el número de copias mediante una PCR

Una vez tenemos el ADN digerido con enzimas y en cantidad suficiente se corre una electroforesis en un gel de agarosa en un gel de agarosa para separar los diferentes fragmentos de ADN según su tamaño. Ahora ya tenemos el ADN separado por tamaño de la doble hebra.

A partir de este momento empieza el southern blot propiamente dicho. En este momento se traspa el ADN del gel a una membrana de nailon.

Finalmente se revela con una película fotográfica, si la sonda es radioactiva o con luz fluorescente.

Northern blot

Para poder realizar un Northern blot es necesario el conocimiento previo de algunas técnicas de laboratorio. Para empezar la muestra biológica ha de ser sometida a un tratamiento de extracción de ARN, eliminando las proteínas y el ADN. El ARN es muy sensible a la degradación y por eso se ha de trabajar en condiciones de esterilidad mayores a los habituales.

Una vez extraído el ARN de la muestra, este queda en suspensión en agua. Después se carga en un gel de agarosa al que se ha añadido formaldehído para que el ARN pierda su estructura secundaria.

Una vez separados los ARNs según su tamaño es el momento de hacer el blot

Para ello se utiliza una membrana de nailon u otro material capaz de retener fuertemente las moléculas de ARN.

Mientras los ARN van del gel hasta la membrana los ARN mantendrán su separación por peso

Northern blot tiene una baja sensibilidad en comparación con la RT-PCR, pero una alta especificidad que reduce los falsos positivos