

Nahara Ageleth Figueroa Caballero

Q.F.B Hugo Nájera Mijangos

PRUEBAS

Genética

3°

“B”

TECNICAS DE HIBRIDACION

SOUTHER BLOT

¿definición?

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).

¿Cual es su función?

identificar fragmentos de ADN separados por electroforesis en gel y transferidos a una membrana de nitrocelulosa o nylon.

¿Cómo es el proceso?

1 EL material de partida es el ADN purificado, el cual es sometido a una digestión enzimática, los enzimas más utilizados son el Hae III y Hinf I.

2 El ADN digerido se somete a una electroforesis en gel de agarosa para separar los fragmentos producidos según su tamaño.

3 la transferencia del ADN a una membrana de nylon o nitrocelulosa para obtener una réplica exacta del patrón de bandas de ADN que hay en el gel.

➤ la desnaturalización para separar las cadenas de ADN de forma que la sonda pueda hibridar
➤ la transferencia desde el gel a la membrana por capilaridad anclaje del ADN

4 La hibridación se realiza incubando la membrana con diferentes reactivos, entre ellos las sondas marcadas específicamente y diluidas en una solución de hibridación adecuada.

5 El revelado que se realiza mediante autorradiografía, de manera que aparecerá una mancha oscura en los puntos de la membrana en que se localicen los híbridos sonda/secuencia diana.

NOTHERN BLOT

¿definición?

método de análisis de laboratorio que se utiliza para estudiar el ARN. Específicamente, los fragmentos de ARN purificados provenientes de una muestra biológica (como sangre o tejido).

¿Cual es su función?

Esta técnica proporciona información sobre la longitud de las secuencias de ARN, la presencia de variaciones en la secuencia y la cuantificación de secuencias de ARN.

¿Cómo es el proceso?

1 Las muestras de ARN se separan en geles según su tamaño mediante electroforesis en gel.

2 Los fragmentos de ARN separados se transfieren luego a una membrana de nylon.

3 Los segmentos transferidos se inmovilizan sobre la membrana mediante agentes de fijación.

4 La hibridación forma la base de la detección de ARN ya que la especificidad de la hibridación entre la sonda, y el ARN permite la identificación precisa de los segmentos.

5 La transferencia Northern utiliza la separación dependiente del tamaño de los segmentos de ARN y, por tanto, puede usarse para determinar los tamaños de las transcripciones.

PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa)

¿definición?

es una técnica de laboratorio utilizada para amplificar secuencias de DNA. El método utiliza secuencias cortas de DNA, llamadas primers o cebadores, para seleccionar la parte del genoma a amplificar.

¿Cual es su función?

producir millones de copias de la secuencia en estudio en sólo unas pocas horas.

¿Cómo es el proceso?

1 **Desnaturalización del DNA molde:** las cadenas de DNA son sometidas a una temperatura de 95 °C durante 20-30 segundos para poder separarlas.

2 **Alineamiento de dos primers sintéticos al DNA molde desnaturalizado:** Los primers se alinean al extremo 3' del templado previamente separado e hibridan con su secuencia complementaria

3 **Extensión:** la síntesis de DNA se inicia en los extremos 3' de los primers unidos. La extensión de los primers se produce a temperaturas entre 55 °C y 70 °C en una reacción enzimática catalizada por una DNA polimerasa termoestable.

Referencia bibliográfica

BIOTED. (2020). SOUTHERN BLOT.

blot, W. (2021). Northern Blot.

Tamay de Dios L, I. C. (19 de Agosto de 2020). Fundamentos de la reacción en cadena de la

polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real

