



Universidad del sureste
Campus Comitán
Licenciatura en Medicina Humana



- **NORTHERN BLOT**
- **SOUTHERN BLOTTING**
- **PCR**

Nombre del alumno: Jennifer González Santiz

Materia: Genética Humana

Grado y grupo: 3°D

Unidad III

Nombre del docente: Hugo Nájera Mijangos

NORTHERN BLOT

PROCEDIMIENTO

- Homogeneizar la muestra.
- Separación de la molécula de interés mediante una membrana de electroforesis.
- Transferencia de las moléculas a una membrana de nitrocelulosa/nylon.
- Hibridación o identificación de la molécula.

ES:

Es un método de análisis de que se utiliza para estudiar el ARN. Específicamente, los fragmentos de ARN purificados provenientes de una muestra biológica se separan mediante corriente eléctrica para hacerlos desplazar a través de un gel o matriz similar a un tamiz

USO

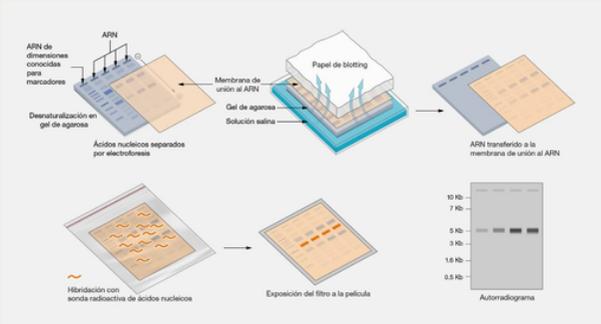
- Permite observar un patrón particular de expresión génica entre tejidos, órganos, estadios del desarrollo, niveles de estrés ambiental, infecciones causadas por patógenos.
- En el diagnóstico de varias enfermedades, p. ej., Enfermedad de Crohn.
- Para la detección de microARN virales que desempeñan un papel clave en la infección viral.
- Para cribar recombinantes, detectando el ARNm formado por el transgén.
- Determinación del tamaño del producto de un gen y de su abundancia relativa.
- Observar la sobreexpresión de oncogenes y la desregulación de genes oncosupresores en células cancerosas cuando son comparadas con tejidos normales.

GELES

Las muestras de ARN se separan usando geles de agarosa usando formaldehído como agente desnaturalizante. Los geles pueden teñirse con bromuro de etidio u otro agente intercalante y se visualizan generalmente bajo luz ultravioleta.

SONDAS

Las sondas pueden ser complementarias a la totalidad o parte del ARN de interés. Pueden ser ARN, ADN u oligonucleótidos de 25 pares de bases complementarios al ARN diana. Las sondas requieren ser marcadas bien con isótopos radiactivos (^{32}P) o con quimioluminiscencia.



SOUTHERN BLOTTING

TECNICA

- Se necesitan enzimas de restricción para dividir la muestra de ADN en fragmentos antes de la electroforesis
- Antes de la transferencia, el ADN bicatenario separado se desnaturaliza con una solución alcalina → fragmentos de ADN monocatenario
- Método de transferencia: transferencia capilar de ADN desde un gel de electroforesis a un filtro
- Utiliza sondas de oligonucleótidos marcadas que son complementarias a la secuencia de ADN diana
- La incubación permite la hibridación de la sonda con el ADN diana.

PROCEDIMIENTO

- Extracción del ADN
- Digestión del ADN con una endonucleasa de restricción
- Electroforesis en gel de agarosa
- Preparación de un ensayo de Southern ("Southern blot")
- Hibridación con sonda radioactiva
- Detección de los RFLPs mediante autorradiografía
- Reensayar el resultado del Southern con sondas adicionales

¿QUE ES?

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

SE UTILIZA

En biología molecular para la identificación de proteínas y ácidos nucleicos y se utiliza ampliamente con fines de diagnóstico.

ANTECEDENTES

El "Southern blot" fue introducido por Edwin Southern en 1975 como método para detectar secuencias específicas de ADN en muestras de ADN.

USO

Puede detectar:
Pequeñas y grandes mutaciones de ADN:

- Delecciones
- Duplicaciones
- Reordenamientos
- Cambios en la metilación de genes

Aplicaciones:

- Medicina forense
- Identificar nuevas mutaciones causantes de enfermedades
- Diagnóstico de afecciones genéticas
- Identificación de marcadores genéticos específicos de malignidad (e.g., fusión del gen BCR-ABL1 en la leucemia mieloide crónica)

PCR

SIRVE PARA:

- Clonación celular de fragmentos de ADN
- Detección de secuencias sin purificación previa
- rastreo de mutaciones
- Diagnostico de enfermedades genéticas
- Detección de microorganismo infecciosos
- Detección de células tumorales
- Amplificación de ADN para su posterior clonación celular

¿QUE ES?

Las pruebas de reacción en cadena de la polimerasa o PCR son un conjunto de estudios de diagnóstico ágiles y confiables que se utilizan para detectar alteraciones genéticas, padecimientos de origen infeccioso y células cancerosas

MAIN IDEA

- Extracción del ADN
- Preparación de la muestra
- Amplificación: desnaturalización, alineamiento y extensión.
- Electroforesis

TIPOS DE PCR

- Prueba PCR in situ
- Prueba PCR múltiple
- Prueba PCR andada
- Prueba de PCR en tiempo real
- Prueba PCR de extensión soplada.
- Prueba de RT-PCR

REACTIVOS

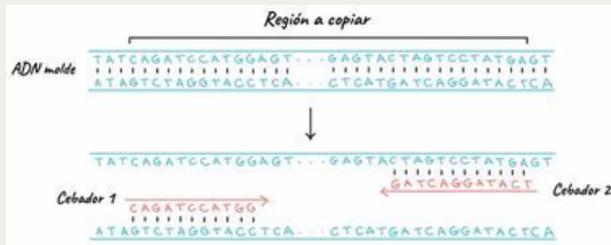
- Muestra de ADN
- Buffer o solución amortiguadora
- MgCl₂
- dNTPs
- Indicadores
- Taq polimerasa
- Agua destilada

TERMOCICLADOR

Es el equipo en el cual se realiza la PCR, puede cambiar la temperatura en cuestión de segundos mediante el calentamiento/ enfriamiento.

ELECTROFORESIS

Es una técnica en la que una corriente eléctrica impulsa fragmentos de ADN a través de una matriz de gel y los fragmentos de ADN se separan según su tamaño. Detecta el producto de amplificación mediante una electroforesis en gel de agarosa o acrilamida



Bibliografía

- <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Southern-Blot>
- <https://www.naturalista.mx/places/wikipedia/Southern>
- <https://www.lecturio.com/es/concepts/tecnicas-de-transferencia/>
- <https://es.slideshare.net/CarolinaHerrera151/fundamentos-de-tcnicas-blotting-southern-northern-western>
- https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/campaigns/assurance-gds?tfa_1651=7011E000001NHFwQAO&gclid=Cj0KCQiAjMKqBhCgARIsAPDgWlzDCYnxvOrCRTToTUyrzP40zbotwPrMry99MoMofVYIYB3IKBy0IzEaAIXTEALw_wcB
- https://www.isciii.es/InformacionCiudadanos/DivulgacionCulturaCientifica/DivulgacionISCIII/Paginas/Divulgacion/COVID19_PCR_test.aspx
- <https://bluenethospitals.com/blog/coronavirus-covid-19/Prueba-PCR-Los-Cabos>
- <https://www.agenciasinc.es/Noticias/Asi-son-las-pruebas-PCR-que-se-utilizan-para-detectar-el-coronavirus>