



Universidad del Sureste
Campus Comitán
Medicina Humana

UDS
Mi Universidad

“MAPA CONCEPTUAL SOUTHERN BLOT, NORTHERN BLOT Y PCR”

Nombre del alumno: Liliana Guadalupe Hernández Gomez

Parcial: 3

Nombre de la materia: Genética Humana

Nombre del Profesor: Q.F.B Nájera Mijangos Hugo

Semestre: 3º

Comitán de Domínguez, Chiapas; a 11 de noviembre del 2023

Genética Humana

Southern Blot

Técnica de hibridación, en la cual es posible verificar si una secuencia de ADN específica (gen de interés) está o no presente en la muestra en análisis que contiene una mezcla compleja (genoma entero de un organismo), permite la detección simultánea de varias secuencias diana de distintos tamaños con una única hibridación, separado por electroforesis en gel y transferidos a una membrana de nitrocelulosa o nylon.

Pasos para realizar la técnica

- 1.- Extracción del ADN: Muestra biológica ya sea de células o tejido.
- 2.- Digestión del ADN con una endonucleasa de restricción: El ADN extraído se trata con una endonucleasa de restricción.
- 3.- Electroforesis en gel de agarosa: Luego de la digestión del ADN sigue la separación de los fragmentos resultantes de ADN obtenidos de acuerdo con el peso molecular, mediante electroforesis.
- 4.- Preparación de un ensayo de Southern Blot: Tras la electroforesis las moléculas de ADN separadas se desnaturalizan mientras permanecen en el gel de agarosa, impregnando este con una disolución salina, en esta etapa el ADN tiene la capacidad de hibridar con la sonda y que algún ARN aun existente en la muestra es destruido.
- 5.- Hibridación con sonda radioactiva: Una sonda de locus único es una molécula pequeña de ADN Y ARN capaz de hibridar. La sonda es marcada con átomos radiactivos, colorante fluorescente o una enzima que genera una señal cuando entra en contacto con un sustrato, de forma a hacer posible la detección de los lugares de hibridación.
- 6.- Detección de los RFLPs mediante autorradiografía: La hibridación de la sonda radiactiva sobre la membrana de ensayo se detectan mediante rayos X, aquí la membrana de nailon se coloca, una vez lavada, junto a una película de rayos X dentro de una caja que aislé de la luz. La película registra las posiciones donde hay desintegración radioactiva.

Northern Blot

Es una técnica de análisis en donde se utiliza el ARN. Se obtiene mediante una muestra biológica, sangre o tejido. Se separa por tamaño mediante electroforesis y se transfiere e inmoviliza en una superficie solida(membrana).

La sonda con secuencia complementaria de ARN de interés, es marcada con métodos reactivos o no reactivos, luego se incorpora en la membrana que contiene el ARN inmovilizado y finalmente la hibridación con la secuencia complementaria detectara. La marcación permite que los fragmentos de ARN que contienen secuencias complementarias a la secuencia de AD utilizada como sonda sean visualizadas en Northern Blot.

La diferencia entre southern blot es que aquí solo interviene el ARN en la tinción

Pasos para realizar la técnica

- Los ARN se desnaturalizan rompiendo los enlaces H mediante la aplicación de formaldehido
- Los ARN se inmovilizan en una membrana de nailon o nitrocelulosa tras su separación por electroforesis
- La detección se realiza mediante sondas marcadas radiactivamente, bajo un autorradiograma o sondas no radioactivas (bioluminiscentes o ligadas a enzimas).

PCR

Técnica que sirve para hacer muchas copias de un trozo determinado de ADN a partir de una muestra que tiene cantidades bajas de ADN. Se usa para identificar cambios en un gen o cromosoma o bien para identificar trozos de ADN de determinadas bacterias, virus o microorganismos para diagnosticar una infección y cambios genéticos.

Pasos para realizar la técnica

- Se lleva la reacción hasta una temperatura de 94-96° C se mantiene durante 1-9min. Esto para las ADN polimerasas que requieran activación por calor
- Desnaturalización del ADN se separarán las dos cadenas a las cuales lo constituye. La temperatura a la que se desnaturaliza dependerá de la proporción de guanina y citosina que contenga la cadena como del largo de la misma. U otra manera seria la adición de sales o agentes químicos que puedan realizar desnaturalización.
- Alineamiento o unión del cebador, este se unirá a su secuencia complementaria en el ADN molde. Se bajará la temperatura a 40-68° C durante 20-40seg. de esta manera se alinean. Los puentes de hidrogeno estables entre las cadenas de ADN unión ADN-ADN, solo se forman cuando la secuencia del cebador es muy similar a la secuencia de ADN molde.
- Extensión o elongación de la cadena. En esta etapa actúa la polimerasa, tomando el ADN molde para sintetizar la cadena complementaria y partiendo del cebador como soporte inicial para la síntesis de nuevo ADN.
- Elongación final, se lleva acabo a una temperatura de 70-74°C durante 5-15min tras el ultimo ciclo de PCR. Con esto cualquier ADN de cadena simple restante será totalmente ampliado. Y la conservación se lleva acabo a 4-15°C durante un tiempo definido para conservar la reacción a corto plazo.

Bibliografía

Alejandra Serrato Díaz1, L. F. (s.f.). *PCR: reacción en cadena*.

(2023). Naturalista.mx.

<https://www.naturalista.mx/places/wikipedia/Southern#:~:text=El%20Southern%20Blot%20es%20una,Willi%20y%20S%C3%ADndrome%20X%20f%C3%A1gil>.

Inês da Silva. (2018). *Southern Blot - Knoow*. Knoow.net. <https://knoow.net/es/ciencias-tierra-vida/biologia-es/southern-blot/>

Northern blot. (2023). Genome.gov. <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Northern-blot>

Northern blot para que sirve - Gentaur España - Anticuerpos, Kits de PCR, Kits de ELISA. (2022, May 9). Gentaur España - Anticuerpos, Kits de PCR, Kits de ELISA. <https://gentaur.es/conocimiento/northern-blot-para-que-sirve>

Artedynamico. (2022). ETAPAS DE UN PROCESO PCR. *Equipos Y Laboratorio de Colombia*.

<https://www.equiposylaboratorio.com/portal/inicio>