



UNIVERSIDAD DEL SURESTE
CAMPUS COMITAN
LIC. EN MEDICINA HUMANA



BIOLOGIA MOLECULAR
Cuadro sinóptico sobre Técnicas de Biología Molecular

Luis Brandon Velasco Sanchez
Dr Andrés Alonso Cansino García
4 A

TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Técnica que permite amplificar de forma exponencial una secuencia específica de ADN, generando millones de copias a partir de una pequeña cantidad inicial.

Propósito

- Generar múltiples copias de una región de ADN para facilitar su análisis
- Detectar la presencia de un fragmento de ADN específico en una muestra

Pasos Principales

- Desnaturalización:** Se calienta la muestra a aproximadamente 94-98°C para separar las hebras de ADN.
- Alineamiento (o "hibridación"):** La temperatura se reduce a 50-65°C para que los cebadores (fragmentos cortos de ADN) se unan a las secuencias complementarias en las hebras de ADN.
- Extensión:** La temperatura se eleva a alrededor de 72°C, permitiendo que la enzima ADN polimerasa agregue nucleótidos a los cebadores y sintetice una nueva hebra de ADN.

Aplicaciones

- Diagnóstico clínico: Detección de enfermedades infecciosas (por ejemplo, virus y bacterias).
- Investigación forense: Análisis de ADN en investigaciones criminales.
- Estudios de genética: Análisis de mutaciones, secuenciación genética y estudios de herencia.
- Bioclonación y clonación: Producción de ADN para clonación y expresión génica.

Ventajas

- Alta sensibilidad y especificidad
- Requiere una mínima cantidad de ADN inicial
- Proceso rápido, con resultados en pocas horas

Limitaciones

- Sensible a la contaminación, lo que puede producir falsos positivos
- Requiere equipos específicos (termociclador) y reactivos
- Solo amplifica fragmentos de tamaño limitado; no ideal para fragmentos muy largos

Electroforesis

Técnica utilizada para separar moléculas (ADN, ARN, proteínas) basándose en su tamaño y carga eléctrica.

Propósito

- Separar y analizar moléculas biológicas.
- Determinar el tamaño de fragmentos de ADN, ARN o proteínas.

Pasos Principales

- Preparación del gel (agarosa para ácidos nucleicos, poliacrilamida para proteínas).
- Aplicación de la muestra en pocillos.
- Aplicación de un campo eléctrico.
- Migración de las moléculas a través del gel.
- Visualización mediante tinción (e.g., bromuro de etidio para ADN).

Aplicaciones

- Análisis de fragmentos de restricción en ADN
- Determinación de la pureza de proteínas
- Verificación de la expresión génica

Ventajas

- Técnica rápida y eficiente
- Permite la separación precisa de moléculas

Limitaciones

- Requiere equipos especializados
- Resolución limitada para moléculas muy grandes o muy pequeñas

Southern Blot

Técnica para detectar secuencias específicas de ADN dentro de una muestra.

Propósito

- Identificar la presencia de genes específicos
- Analizar patrones de fragmentos de restricción

Pasos Principales

- Digestión del ADN con enzimas de restricción.
- Separación de fragmentos por electroforesis.
- Transferencia de ADN del gel a una membrana (nitrógeno o nylon).
- Hibridación con una sonda marcada complementaria.
- Detección de la sonda unida.

Aplicaciones

- Mapeo de genes
- Diagnóstico de enfermedades genéticas.
- Identificación de organismos modificados genéticamente

Ventajas

- Alta especificidad para secuencias de ADN
- Permite el análisis de ADN genómico completo

Limitaciones

- Proceso laborioso y tiempo intensivo
- Requiere una sonda específica

Northern Blot

Técnica utilizada para detectar y cuantificar ARN específico en una muestra.

Propósito

- Analizar la expresión génica
- Determinar el tamaño y la cantidad de ARN mensajero (ARNm)

Pasos Principales

- Separación del ARN por electroforesis en gel.
- Transferencia del ARN a una membrana.
- Hibridación con una sonda de ADN o ARN complementaria marcada.
- Detección de la sonda unida.

Aplicaciones

- Estudio de patrones de expresión génica
- Identificación de variantes de ARN
- Investigación de procesos de regulación génica

Ventajas

- Permite la cuantificación de ARNm
- Especificidad para diferentes transcritos de ARN

Limitaciones

- Sensible a la degradación del ARN
- Requiere sondas específicas para cada ARNm

Western Blot

Técnica para detectar proteínas específicas en una muestra.

Propósito

- Analizar la expresión y modificación de proteínas
- Verificar la presencia de proteínas de interés

Pasos Principales

- Separación de proteínas por electroforesis en gel (SDS-PAGE).
- Transferencia de proteínas a una membrana (PVDF o nitrocelulosa).
- Bloqueo de la membrana para evitar uniones no específicas.
- Incubación con anticuerpo primario específico.
- Incubación con anticuerpo secundario marcado.
- Detección de la señal del anticuerpo marcado.

Aplicaciones

- Confirmación de la expresión de proteínas recombinantes
- Estudio de modificaciones postraduccionales
- Diagnóstico de enfermedades mediante marcadores proteicos

Ventajas

- Alta especificidad para proteínas objetivo
- Permite la detección de diferentes isoformas de proteínas

Limitaciones

- Requiere anticuerpos específicos y de alta calidad
- Técnica relativamente laboriosa

BIBLIOGRAFIA

- **Biología Molecular E Ingeniería Genética 1ra Edición** by Jose Luque Cabrera; **Angel Herraes Sanchez**
- **BIOLOGÍA MOLECULAR FUNDAMENTOS Y APLICACIONES** Dr. en C. CARLOS BEAS ZÁRATE Químico Farmacobiólogo y Doctorado en Ciencias de la Salud Investigador