

**Universidad Central de Venezuela**  
**Facultad de Medicina**  
**Escuela de Bioanálisis**

Contenido de programas de Asignaturas.

Asignatura:		
<b>TÉCNICAS EN BIOLOGÍA MOLECULAR</b>		
Código	Carácter	Créditos
3611	Electiva	3 (2T – 1L)
Vigencia		
Desde 2010	semestral	
Requisito: Inmunología, Bioquímica II.		
Fuente: Oficina de Control de Estudios.		

**Oficina de Control de Estudios de la Escuela de Bioanálisis.**

Edificio Administrativo de la Escuela de Bioanálisis, P.B. oficina # 09

Av. Carlos Raúl Villanueva, Ciudad Universitaria de Caracas, zona Este.

Los Chaguaramos, Caracas – Venezuela.

Teléfono 058 0212 6053326

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE BIOANALISIS  
CATEDRA DE BIOQUIMICA "A"

ASIGNATURA: **TECNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR**  
CREDITOS: 3 (2T – 1P)  
VIGENCIA: DESDE 2010

CODIGO: 3611  
TIPO: ELECTIVA  
PRELACION:  
Bioquímica II,  
Inmunología

## **PROGRAMA TEORICO**

### Tema 1: INTRODUCCION A LA BIOLOGIA MOLECULAR

Definiciones. Importancia. Aplicaciones. Técnicas. Generalidades de los Ácidos nucleicos.

### Tema 2: LAS HERRAMIENTAS DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR APLICADAS AL DIAGNÓSTICO Y AL TRATAMIENTO EN MEDICINA.

#### *2.1.- EXTRACCION DE ACIDOS NUCLEICOS.*

Herramientas de la Biología Molecular para la obtención y análisis de ADN. Extracción y purificación de ADN: métodos y tecnologías. Herramientas de la Biología Molecular para la obtención y análisis de ARN. Extracción y purificación de ARN: métodos y tecnologías. Metodologías para análisis de Ácidos Nucleicos. Evaluación de la calidad y cantidad de ADN/ ARN obtenido.

#### *2.2.- TÉCNICAS DE SEPARACIÓN Y PURIFICACIÓN DE ACIDOS NUCLEICOS.*

Electroforesis conceptos básicos principios de análisis mediante electroforesis. Tipos de electroforesis y principios. Electroforesis horizontal y vertical. Aplicaciones. Electroforesis vertical. SSCP (conformación de polimorfismo de cadena simple). DGGE (electroforesis en gel de gradiente desnaturizante). TTGE (electroforesis en gel de gradientes de temporales de temperatura). CDGE (electroforesis en gel desnaturizantes a concentraciones constantes). Identificación de genes y fragmentos de ADN. Purificación de fragmentos de ácidos nucleicos a partir de geles. Transferencia de ácidos nucleicos a matrices sólidas. Principios y Aplicaciones. Southern blot y Northern blot. Electroforesis capilar. Uso y aplicaciones.

#### *2.3.- ENZIMAS QUE ACTUAN SOBRE ÁCIDOS NUCLÉICOS*

Análisis de restricción. Enzimas de restricción. Tipos. Usos y aplicaciones. RFLP (polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción). Mapeos físicos mediante enzimas de restricción. Otras enzimas modificadoras (Ligasas, Polimerasas, Transcriptasa reversa, Nucleasas, Fosfatasas, Quinasas, Transferasas, Metilasas, etc). Reacción que cataliza cada una. Su uso en Biología Molecular.

#### *2.4.- LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).*

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Principios y fundamentos. Etapas del proceso. Diseño de primers. Programas informáticos. Factores que afectan la PCR. Tipos de PCR. PCR larga, PCR anidada, asimétrica, con adaptadores, inversa, retrotranscripción (RT-PCR) y PCR Multiplex. Estandarización, validación y control de calidad de resultados en biología molecular. Aplicaciones y potencialidad diagnóstica de la amplificación de ácidos nucleicos. Uso de PCR en la detección de agentes infecciosos y deficiencias genéticas, clonamiento de genes mediante PCR, secuenciación vía PCR. Características y elementos básicos del laboratorio de Biología Molecular.

Principio y fundamento de PCR en Tiempo Real. Químicas de los sistemas de detección (SYBR Green, Taqman, FRET, molecular beacons, scorpions, eclipse, sondas lux). Aplicaciones de PCR en Tiempo Real. Preparación de muestras. Métodos de validación. Aplicaciones. Cuantificación absoluta, cuantificación relativa. Métodos de Livak., Plaff . Selección de controles y genes. Usos. RT-PCR en Tiempo Real. Discriminación alélicas. SNP (Polimorfismo de nucleótido simple).

## *2.5.- SECUENCIACIÓN Y ANALISIS DE SECUENCIAS*

Secuenciación. Principio y fundamento. Estrategias para secuenciación. Análisis de genes. Uso de programas para el análisis de secuencias de ADN. Homologías de secuencias. BlastN-T, traducción de marcos de lectura. Análisis de mapas de restricción. Manejo de banco de datos de genoma.

## *2.6.- MICROARREGLOS*

Microarreglos. Principio y fundamento. Marcaje de sondas para microarreglos. Purificación y cuantificación de sondas. Fabricación de bibliotecas genómicas y de microarreglos. Aplicaciones de microarreglos y consideraciones para el diseño experimental. Análisis de imágenes en microarreglos y análisis estadístico. Análisis de imágenes. Análisis estadístico de los resultados Bioinformática.

## *Tema 3: MECANISMOS DE REPARACION DEL MATERIAL GENETICO: REPARACION, RECOMBINACION, TRANSFORMACION, RESTRICCION Y MODIFICACION.*

Mutaciones. Tipos. Reparaciones de ADN. Mecanismos generales. Recombinación. Tipos. Transformación bacteriana. Restricción y modificación. Mapeo Genético.

## *Tema 4: LOS ORGANISMOS TRANSGÉNICOS Y SU RELACIÓN CON LA SALUD HUMANA.*

Fundamentos y metodologías para la modificación genética de organismos. Alimentos, productos farmacéuticos y animales obtenidos por modificación genética y transgénesis. Seguridad y control. Detección de transgénicos. Vinculación de transgénicos y la salud humana. Conceptos básicos de terapia génica.

## *Tema 5: CLONAMIENTO DE GENES.*

Clonamiento. Vector de clonamiento. Tipos de vehículos de clonamiento. Características que deben reunir. Biología de Plásmidos. Usos como vectores. Estrategias de clonamiento. Clonamiento shot-gun, clonamiento dirigido, enriquecimiento de secuencias,

etc. Empaquetamiento. Transformación. Transfección. Electroporación. Selección y caracterización de clones. Marcajes de sondas y anticuerpos. Selección (Screening). Grados de rigurosidad.

*Tema 6: ANÁLISIS DE GENOMAS DE EUCARIOTAS.*

Análisis de polimorfismo de fragmentos de restricción (RFLP). Marcadores Moleculares, Huellas Génicas (Fingerprinting). Forénsica. Bases de cada una de estas técnicas y aplicaciones. Proyectos genoma. "Genomics" análisis funcional de secuencias provenientes de bancos de datos [Discusión de

*Tema 7: BIOINFORMÁTICA Y PROYECTO GENOMA*

Utilización de las herramientas bioinformáticas para el análisis de genes y regiones de interés. Cómo determinar comparativamente regiones conservadas y variables.

## **PROGRAMA PRÁCTICO**

Tema 1: Extracción y cuantificación de ADN a partir de distintas muestras.

Tema 2: Extracción y cuantificación de ARN.

Tema 3: Electroforesis en agarosa.

Tema 4: Reacción en Cadena de la Polimerasa.

Tema 5: Corte con enzimas de restricción.

Tema 6: Electroforesis en gel de poliacrilamida.

Tema 7: Transferencia de ácidos nucleicos a matrices sólidas. Southern blot o Northern blot

Tema 8: Hibridización.

Tema 9: PCR en Tiempo Real.

Tema 10: Análisis de secuencia

## BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books>

**Conceptos de Genética.** 8ª Edición. WS Klug, MR Cummings & CA Spencer. Pearson Educación SA, Madrid, 2006. Versión en castellano de [Concepts of genetics](#), 8<sup>th</sup> Edition. WS Klug, MR Cummings & CA Spencer. Pearson Education Inc - Prentice Hall, NJ, USA, 2006.

**Genética: un enfoque conceptual.** 2ª Edición. BA Pierce. Editorial Médica Panamericana SA, Madrid, 2006. Versión en castellano de [Genetics: a conceptual approach](#), 2<sup>nd</sup> Edition. BA Pierce. WH Freeman & Co, NY, USA, 2005.

**Genética moderna.** AJF Griffiths, WM Gelbart JH Miller, RC Lewontin. McGraw-Hill/Interamericana de España, 2000. Versión en castellano de [Modern Genetic Analysis](#), 1<sup>st</sup> Edition. AJF Griffiths, WM Gelbart JH Miller, RC Lewontin. WH Freeman & Co. 1999.

**Texto ilustrado de Biología Molecular e Ingeniería Genética. Conceptos, Técnicas y Aplicaciones en Ciencias de la Salud.** J Luque y Á Herráez. Ediciones Harcourt, SA, Madrid, 2001.

[Genetics. A molecular perspective.](#) WS Klug & MR Cummings. Prentice Hall, Pearson Education, Upper Sadle River, New Jersey, USA. 2003.

**Genética.** 7ª Edición. AJF Griffiths, JH Miller, DT Suzuki, RC Lewontin, WM Gelbart. McGraw-Hill/ Interamericana de España, 2002. Versión en castellano de [An Introduction to Genetic Analysis](#), 7<sup>th</sup> Edition. AJF Griffiths, JH Miller, DT Suzuki, RC Lewontin, WM Gelbart. WH Freeman & Co. 2000.

**Genética: Texto y Atlas.** 2ª Edición. E Passarge. Editorial Médica Panamericana SA, Buenos Aires, 2004. Versión en castellano de *Color Atlas of Genetics*. Eberhard Passarge. Thieme Medical Pub, 2001.

**Análisis Evolutivo.** 2ª Edición. S Freeman & JC Herron. Pearson Educación, SA, Madrid, 2002. Versión en castellano de [Evolutionary Analysis](#), 2<sup>nd</sup> edition. S Freeman & JC Herron. Prentice Hall, Inc, Upper Sadle River, New Jersey, USA, 2001.

[Genomes.](#) 2<sup>nd</sup> edition. TA Brown. BIOS Scientific Publishers Ltd, Magdalen Rd, Oxford, UK, 2002.

**Principios de genética.** Robert H Tamarin. Editorial Reverté, 1996. Versión en castellano de [Principles of Genetics](#), 4<sup>th</sup> edition, WC Brown Publishers.

**Genética Humana.** T Strachan & AP Read. McGraw-Hill Interamericana Editores SA de CV, México DF, 2006. Versión en castellano de [Human Molecular Genetics 3](#). T Strachan & AP Read. Garland Publishing Science, Abingdon, UK, 2004.

**Genética Molecular Humana.** 2ª Edición. P Sudbery. Pearson Educación SA, Madrid, 2004. Versión en castellano de [Human Molecular Genetics](#), 2<sup>nd</sup> edition, P Sudbery, Pearson Education Ltd, UK, 2002.

**Genética Humana. Fundamentos y Aplicaciones en Medicina.** 2ª Edición. AJ Solari. Editorial Médica Panamericana, SA, Buenos Aires, Argentina, 1999.

**Biología Molecular del Gen.** 5ª Edición. JD Watson, TA Baker, SP Bell, A Gann, M Levine & R Losick. Editorial Médica Panamericana, SA, Madrid, 2006. Versión en castellano de [Molecular Biology of the Gene](#), 5<sup>th</sup> edition, JD Watson, TA Baker, SP Bell, A Gann, M Levine & R Losick. Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, CA, USA, 2004.

[Genes VIII.](#) B Lewin. Prentice Hall, Pearson Education, Upper Sadle River, New Jersey, USA. 2004.

***Genetics: a molecular approach.*** 3<sup>rd</sup> edition. TA Brown. Chapman & Hall, Boundary Row, London, UK. 1998.

**Genética. Fundamentos y Perspectivas.** 2<sup>a</sup> Edición. MJ Puertas. McGraw-Hill Interamericana de España, SAU, Madrid, 1999.