



TÉCNICAS EN BIOLOGÍA MOLECULAR

RESPONSABLE:

Dra. Lisbeth Berrueta.

CREDITOS: 2

El curso de “*Técnicas de Biología Molecular* “ está destinado a profesionales del área biomédica con conocimientos básicos relativos a la Biología celular. Al finalizar el curso, el alumno estará en capacidad de conocer las principales técnicas del ADN recombinante aplicables al estudio de los fenómenos biológicos.

DURACIÓN DEL CURSO:

Dos semanas.

PROFESORES PARTICIPANTES:

- Prof. Siham Salmen, Instituto de Inmunología Clínica.
- Prof. Lisbeth Berrueta, Instituto de Inmunología Clínica.

OBJETIVOS:

1. Revisar los conceptos fundamentales en Biología molecular que permitan abordar las técnicas más comunes en ADN recombinante.
2. Profundizar en el conocimiento teórico de las técnicas moleculares más utilizadas en el campo de la biomedicina.
3. Ilustrar mediante ejemplos el diseño de sondas moleculares, clonación y expresión de genes, mutagénesis dirigida y otras herramientas indispensables para el abordaje de interrogantes durante la realización de un proyecto de Investigación.
4. Desarrollar en el Laboratorio las técnicas más comunes de Biología molecular con aplicación directa en Investigación Biomédica.

CONTENIDO DEL CURSO:

- Aislamiento y purificación del ADN.



- Técnicas de detección de ácidos nucleicos.
- Electroforesis del ADN en geles de agarosa y poliacrilamida.
- Digestión del ADN mediante endonucleasas de restricción.
- Mutagénesis.
- Utilidad de los vectores virales durante la transfección de genes.
- Técnicas de hibridación: hibridación sobre colonias, hibridación tipo Southern blot. Northern blot.
- Técnicas de amplificación de ácidos nucleicos.
- Técnicas de clonación y expresión de proteínas recombinantes.
- Técnicas para el análisis del genoma. Sondas moleculares.
-

REQUISITOS:

Antes de iniciar el curso el alumno debe manejar los conocimientos básicos relativos a la genética celular:

- Ácidos nucleicos. Replicación del ADN
- Código genético. Síntesis proteica.
- Regulación de la síntesis proteica.

ACTIVIDADES:

El curso comprende actividades teóricas y prácticas. En las primeras se dictarán conferencias sobre los diferentes tópicos contemplados en el curso. Durante las actividades prácticas los alumnos podrán aplicar los conocimientos teóricos adquiridos y desarrollar destrezas en el manejo de las principales técnicas del ADN recombinante.

ACTIVIDADES PRÁCTICAS:

Las actividades prácticas serán realizadas en paralelo a las actividades teóricas, se extenderán hasta la segunda semana del curso y estarán destinadas a la consolidación de los conceptos previamente revisados. A partir de sueros de pacientes infectados tanto con el virus de la Hepatitis B (HBV) como con el virus de la Hepatitis C (HCV), los estudiantes aprenderán a aislar y manipular el ADN genómico, a amplificar los ácidos nucleicos partiendo tanto de ADN como de ARN, a realizar digestión enzimática con



endonucleasas de restricción y detección de fragmentos de ADN en geles de acrilamida (RFLP), a preparar una corrida electroforética en geles de Agarosa y documentación del producto amplificado.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Día	Mañana	Tarde
1	Teoría 1. Introducción a la Biología Molecular 2. La molécula de ADN. Código genético.	Teoría y práctica. Extracción y purificación de ácidos nucleicos a partir de muestras de suero. Extracción de ácidos nucleicos para HBV
2	Teoría 1-Seminario: Replicación del ADN 2- Charla: Amplificación de ácidos nucleicos PCR, RT-PCR	Teoría y práctica Extracción de ácidos nucleicos para HCV
3	Teoría 2-Seminario: Síntesis proteica, modelo eucariota 3- Charla: E. Coli y sus virus como herramientas en Biología Molecular	Práctica: Continuación extracción de ácido nucleico para HCV RT-para HCV
4	Teoría Charla: Plásmidos y sistemas de transfección mediados por vectores virales Amplificación del genoma viral HBV	Práctica Amplificación del genoma del HBV mediante reacción de cadena de polimerasa
5	Teoría Técnicas de incorporación del ADN en las células Amplificación del genoma de HCV	Práctica Amplificación del genoma de HCV
6	Teoría Mutagénesis Endonucleasas de restricción. RFLP y otras técnicas moleculares para el análisis del genoma	Práctica Hepatitis enzimática con Hepatitis de restricción
7	Teoría Estudio de genotipos virales para el diagnóstico molecular de la infección por virus de las hepatitis. RFLP	Práctica RFLP para estudio de genotipos en infección por HCV
8	Teoría Técnicas de clonación de ácidos nucleicos Expresión de proteínas recombinantes	Práctica Continuación de RFLP, electroforesis en PAGE, análisis
9	Presentación y discusión de trabajos previamente asignados a cargo de los estudiantes	Discusión de los resultados de las prácticas

ESTRATEGIAS DE EVALUACIÓN:



Esta asignatura se evalúa mediante la presentación de un seminario lo cual equivale al 60% de la nota definitiva, la realización de un examen escrito al cual se le asigna un total de 30% de la nota definitiva y el desempeño que el estudiante muestre en las actividades prácticas lo cual representa el 10% de la nota definitiva

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA:

Alberts, B., Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M. Roberts, K. and Watson, J.D. (Edts). Molecular Biology of the Cell. Third Edition. Garland Publishing, Inc. New York & London 2003

Harwood, Adrian J (Edt). Methods in Molecular Biology (vol 58). Basic DNA and RNA Protocols. Humana Press, Totowa, New Jersey. 2000.

Sambrook, J.; Fritsch, E.F; and Maniatis, T. Molecular Cloning. A Laboratory Manual. Frod, N.; Nolan, C. and Ferguson, M. (Edts). Second Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2002.

Singer, M.; and Berg, P. (Edts). Genes & Genomes: A Changing Perspective. University Science Books, Mill Valley, California. 2002.

Watson, J., Hopkins, N.H., Roberts, J.W., Steitz, J.A., and Weiner, A.M. (Edts). Molecular Biology of the Gene (II vol). The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California. 2002,