

	GESTIÓN DE RECURSOS Y SERVICIOS BIBLIOTECARIOS	Código	FO-SB-12/v0
	ESQUEMA HOJA DE RESUMEN		Página

## RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR(ES): NOMBRES Y APELLIDOS COMPLETOS

NOMBRE(S): MARIA ALEJANDRA APELLIDOS: ROJO OROZCO  
 FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE.

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLOGICA

DIRECTOR(ES):

NOMBRE(S): HUMBERTO APELLIDOS: OSSA REYES

TÍTULO DEL TRABAJO (PASANTIA): TIPIFICACIÓN MOLECULAR DEL HLA B\*27 MEDIANA Y ALTA RESOLUCIÓN MEDIANTE PCR-SSP.

### RESUMEN

En el presente trabajo se estandarizó el protocolo para la tipificación del alelo HLA B\*27 por medio de la técnica de PCR-SSP en mediana resolución e identificación en alta resolución de algunos de los subtipos más representativos. Durante el transcurso del proyecto se evaluaron, analizaron y diseñaron los cebadores y mezclas por medio de herramientas bioinformáticas como UGENE, AmplifX y base de datos como IPD-IMGT/HLA, NCBI, OligoAnalyzer y dbMHC.

Para la estandarización del protocolo se diseñaron 17 mezclas formadas por 28 cebadores de los cuales 2 fueron tomados de bibliografía y 4 fueron diseñados por bioinformática, los demás cebadores son utilizados para la tipificación completa del locus B e identificados como específicos para el alelo B\*27. Todas las mezclas fueron evaluadas por medio de ensayos in Silico y para el diseño del ciclo térmico se tomaron en cuenta parámetros como la Temperaturas Melting y el %GC de los cebadores. La lectura del producto de PCR se realizó por medio de electroforesis en gel de agarosa al 2% con bromuro de etidio como agente intercalante. Los ADN fueron muestra guardas en el laboratorio como control positivo de anteriores trabajos y muestras remitidas al laboratorio para tipificación HLA completa o locus específico durante el periodo del proyecto. En total se tipificaron molecularmente 30 muestras en mediana resolución es decir solo el diagnostico positivo o negativo para este alelo de las cuales 11 fueron tipificadas en alta resolución encontrando los subtipos B\*27:02, B\*27:03, B\*27:05 y B\*27:07. Tipificación certificada y comparada con el kit comercial de OlerupSSP alta resolución B\*27.

PALABRAS CLAVE: Inmunogenética, HLA, CMH, HLA B\*27, Espondiloartropatias, tipificación molecular, Bioinformática.

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 99 PLANOS:     ILUSTRACIONES:     CD ROOM: 1

Elaboró		Revisó		Aprobó	
Equipo Operativo del Proceso		Comité de Calidad		Comité de Calidad	
Fecha	24/10/2014	Fecha	05/12/2014	Fecha	05/12/2014

**TIPIFICACIÓN MOLECULAR DEL HLA B\* 27 MEDIANA Y ALTA RESOLUCIÓN  
MEDIANTE PCR-SSP. EN EL LABORATORIO DE GENÉTICA Y BIOLOGÍA  
MOLECULAR., BOGOTA, SANTANDER.**

**MARIA ALEJANDRA ROJO OROZCO**

**UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERIA BIOTECNOLÓGICA**

**CÚCUTA**

**2018**

**TIPIFICACIÓN MOLECULAR DEL HLA B\* 27 MEDIANA Y ALTA RESOLUCIÓN  
MEDIANTE PCR-SSP. EN EL LABORATORIO DE GENÉTICA Y BIOLOGÍA  
MOLECULAR., BOGOTA, SANTANDER.**

.

**MARIA ALEJANDRA ROJO OROZCO**

Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de Ingeniero Biotecnológico

**DIRECTOR:**

**DIRECTOR: HUMBERTO OSSA, BSS. MSC. CPHD**

**GENETISTA UNIVERSIDAD NACIONAL**

**UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERIA BIOTECNOLÓGICA  
CÚCUTA**

**2017**

**ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO**

**FECHA:** 15 DE FEBRERO DE 2018

**HORA:** 08:00 AM

**LUGAR:** SALA 3 - CREAD

**PLAN DE ESTUDIOS:** INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

**TITULO:** "TIPIFICACIÓN MOLECULAR DEL HLA B\* 27 MEDIANA Y ALTA RESOLUCIÓN MEDIANTE PCR-SSP"

**MODALIDAD:** TRABAJO DIRIGIDO

**JURADO:** LILIANA YANETH SUAREZ  
SEIR ANTONIO SALAZAR  
JESUS ARTURO RAMIREZ SULVARAN

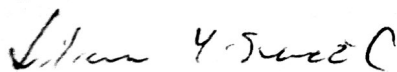
**ENTIDAD:** LABORATORIO DE GENETIA Y BIOLOGIA MOLECULAR LTDA.

**DIRECTOR:** HUMBERTO OSSA

<b>NOMBRE DE LOS ESTUDIANTE</b>	<b>CODIGO</b>	<b>CALIFICACION</b>
MARÍA ALEJANDRA ROJO OROZCO	1610804	4.6

**OBSERVACIONES:** MERITORIO.

**FIRMA DE LOS JURADOS**



**Liliana Yaneth Suarez**

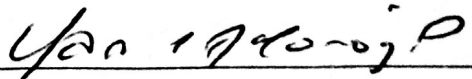


**Seir Antonio Salazar**



**Jesús Arturo Ramírez Sulvaran**

**Vo.Bo Coordinador Comité Curricular**



## **DEDICATORIA**

*El presente trabajo está dedicado en primera instancia a dios por sus constantes bendiciones, a mi abuela y especialmente a mi madre Iraida Orozco, quien me enseñó a no desfallecer en voluntad, por ser la fuerza y pilar en mi formación como persona, mujer y profesional.*

*Por ser una mujer llena de virtudes y un ejemplo a seguir,*

*Gracias por estar siempre presente.*

*Te amo madre.*

## **Agradecimientos**

La autora expresa su más sincero agradecimiento a:

**A Dios**, por concederme la bendición de cumplir una meta más.

**A mi madre**, Iraida Orozco por su incondicional apoyo, comprensión, amor, constante ayuda y por brindarme todas las herramientas necesarias para cumplir mis metas.

**A mis familiares amigos y compañeros**, por brindarme su amistad, confianza y apoyo.

**A mi alma mater la universidad Francisco de Paula Santander, La Facultad de ciencias agrarias y del medio ambiente y la carrera de ingeniera biotecnológica**, por brindarme una formación integral tanto a nivel personal como a nivel profesional.

**A docentes y administrativos parte de programa de ingeniería biotecnológica**, cuyos aportes fueron fundamentales para mi formación profesional.

**Dr. Humberto Ossa**, como docente y director del presente trabajo de grado, cuyos aportes y enseñanzas fueron fundamentales para la construcción del presente proyecto.

**Ing. Alejandra Jaimes**, Ingeniera Biotecnológica de la universidad Francisco de Paula Santander por su asesoría, orientación y colaboración en el presente trabajo.

**Ing. Ismael García** Ingeniero Biotecnológico de la universidad Francisco de Paula Santander, por su apoyo, colaboración y substanciales sugerencia en la presentación del proyecto

**Personal del laboratorio de Genética y Biología Molecular** por su gran colaboración y afecto.

## **TABLA DE CONTENIDO**

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>14</b>
<b>1. PROBLEMA</b>	<b>15</b>
<b>1.1 Título</b>	<b>15</b>
<b>1.2 Planteamiento del Problema</b>	<b>15</b>
<b>1.3 Formulación del Problema</b>	<b>16</b>
<b>1.4 Justificación</b>	<b>16</b>
<b>1.5 Objetivos</b>	<b>17</b>
<b>1.5.1 Objetivo General</b>	<b>17</b>
<b>1.5.2 Objetivos Específicos</b>	<b>17</b>
<b>1.6 Delimitaciones</b>	<b>18</b>
<b>1.6.1 Espacial</b>	<b>18</b>
<b>1.6.2 Temporal</b>	<b>18</b>
<b>1.6.3 Conceptual</b>	<b>18</b>
<b>2. MARCO REFERENCIAL</b>	<b>22</b>
<b>2.1 Antecedentes</b>	<b>22</b>
<b>2.1.1 Antecedentes Empíricos</b>	<b>22</b>
<b>2.1.2 Antecedentes Bibliográficos</b>	<b>22</b>
<b>2.2 Marco Teórico</b>	<b>26</b>

2.2.1 Inmunogenética	26
2.2.2. Relación del haplotipo HLA B*27 con algunas patologías.	28
2.2.3 Bioinformática	30
2.2.2 Técnicas	31
2.3 Marco Contextual	34
2.4 Marco Legal	35
<b>3. METODOLOGÍA</b>	<b>37</b>
3.1 Tipo De Investigación	37
3.2 Población y Muestra	37
3.2.1 Hipótesis	37
3.3 Etapas cumplidas en el desarrollo del proyecto	38
3.3.1 Análisis Bioinformático.	38
3.3.2 Diseño del Ciclo Térmico	57
3.3.3 Aislamiento de ADN por Salting Out.	58
3.3.4 Montaje de PCR.	59
3.3.5 Electroforesis	61
3.3.6 Modificaciones	61
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>64</b>
4.1 Resultados Tipificación Mediana Resolución:	68
4.2 Resultados de la comparación kit comercial Olerup y protocolo interno.	73



<b>5.</b>	<b>CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES</b>	<b>85</b>
<b>6.</b>	<b>CONCLUSIÓN</b>	<b>86</b>
<b>7.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b>	<b>87</b>
<b>8.</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>95</b>