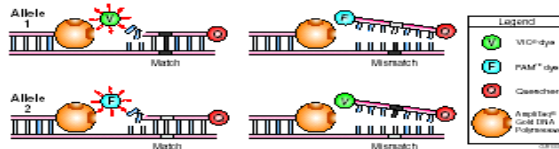


PCR EN TIEMPO REAL PARA DISCRIMINACIÓN ALÉLICA

La discriminación alélica es el proceso por el cual se detectan en una muestra dos variantes de la secuencia de un único nucleótido. Los SNPs (Polimorfismos de Nucleótido Único) son variaciones en un punto determinado de la secuencia nucleotídica de dos individuos. Se trata de la variación genética más abundante en los genomas. Como media en el Genoma Humano hablamos de una variación en cada 500-1000 pares de bases. Esta variación se considera polimorfismo cuando la variación afecta a más del 1% de la población. Los SNPs pueden localizarse en secuencias génicas o extragénicas y en ocasiones se asocian con enfermedades, de ahí su interés.

La tecnología Taqman puede emplearse como puede verse en la figura para el estudio de SNPs. En este caso las dos sondas Taqman presentes en el ensayo son cada una de ellas complementarias para cada uno de los SNPs. Cada una posee un fluorocromo diferente en el extremo 5' y un quencher en el extremo 3'. Durante la fase de extensión de la reacción de PCR la DNA polimerasa rompe la sonda/as hibridada con el DNA, separando el fluorocromo del quencher y detectándose emisión de fluorescencia de una de las sondas o de ambas.



En las sondas Taqman de Applied Biosystems la correlación sonda/secuencia es la siguiente:

Fluorescencia detectada	Indicativa de....
VIC	Homocigoto para el alelo X
FAM	Homocigoto para el alelo Y
Ambas	Heterocigoto

Cómo traer las muestras al Servicio:

Las muestras de DNA genómico podrán traerse ya liofilizadas en placas de 96 o 384 pocillos. La concentración por pocillo será de 5-10 ng totales. El servicio suministrará al usuario una plantilla para completar con los nombres de las muestras.

Para que el ensayo se lleve a cabo los usuarios del IIBm deberán indicar en el Servicio de Genómica el número de pedido del mismo tras solicitar el análisis a través de la web del Servicio de Compras y Almacén. No se llevarán a cabo los ensayos para los que no se haya realizado el pedido correspondiente.

Los usuarios recibirán una tabla excell con el genotipo correspondiente a cada muestra y una imagen (jpg) con las nubes de puntos correspondientes a los diferentes haplotipos.