



Universidad  
de La Laguna

OPEN WARE COURSE



INSTITUTO UNIVERSITARIO  
DE ENFERMEDADES TROPICALES  
Y SALUD PÚBLICA DE CANARIAS  
Universidad de La Laguna

# Herramientas avanzadas de última generación

RAPD

RFLP

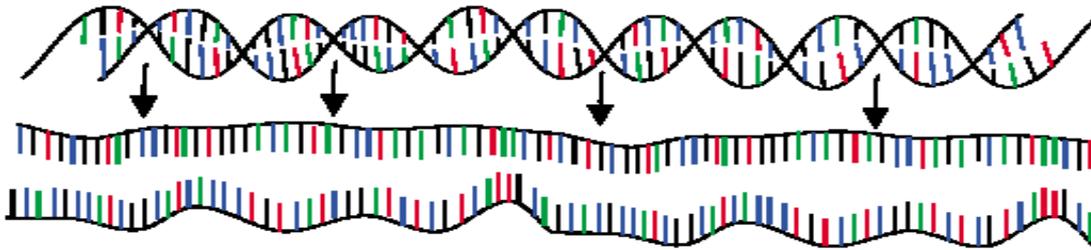
María Antonieta Quispe Ricalde  
Instituto Universitario de Enfermedades  
Tropicales y Salud Pública de Canarias

# REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

30 - 40 cycles of 3 steps :

**Step 1 : denaturation**

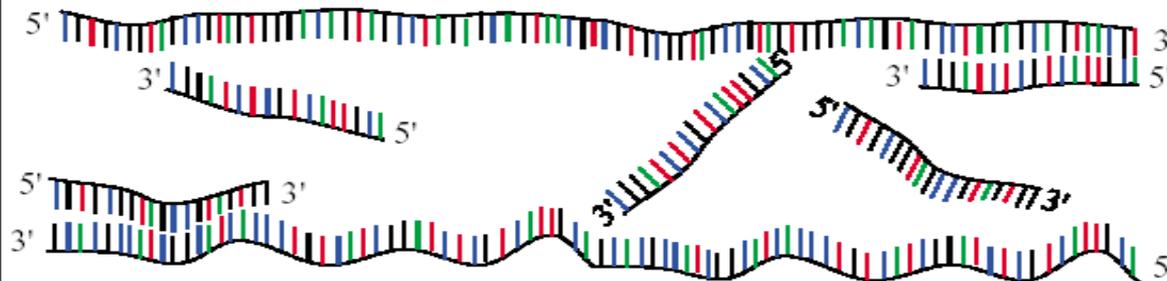
1 minut 94 °C



**Step 2 : annealing**

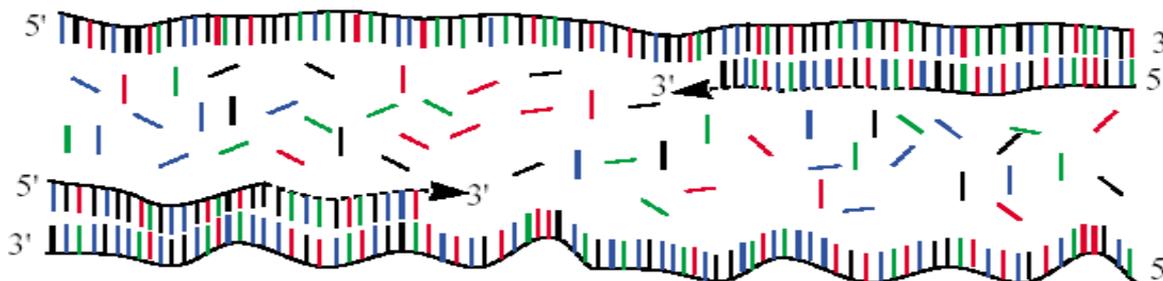
45 seconds 54 °C

**forward and reverse primers !!!**

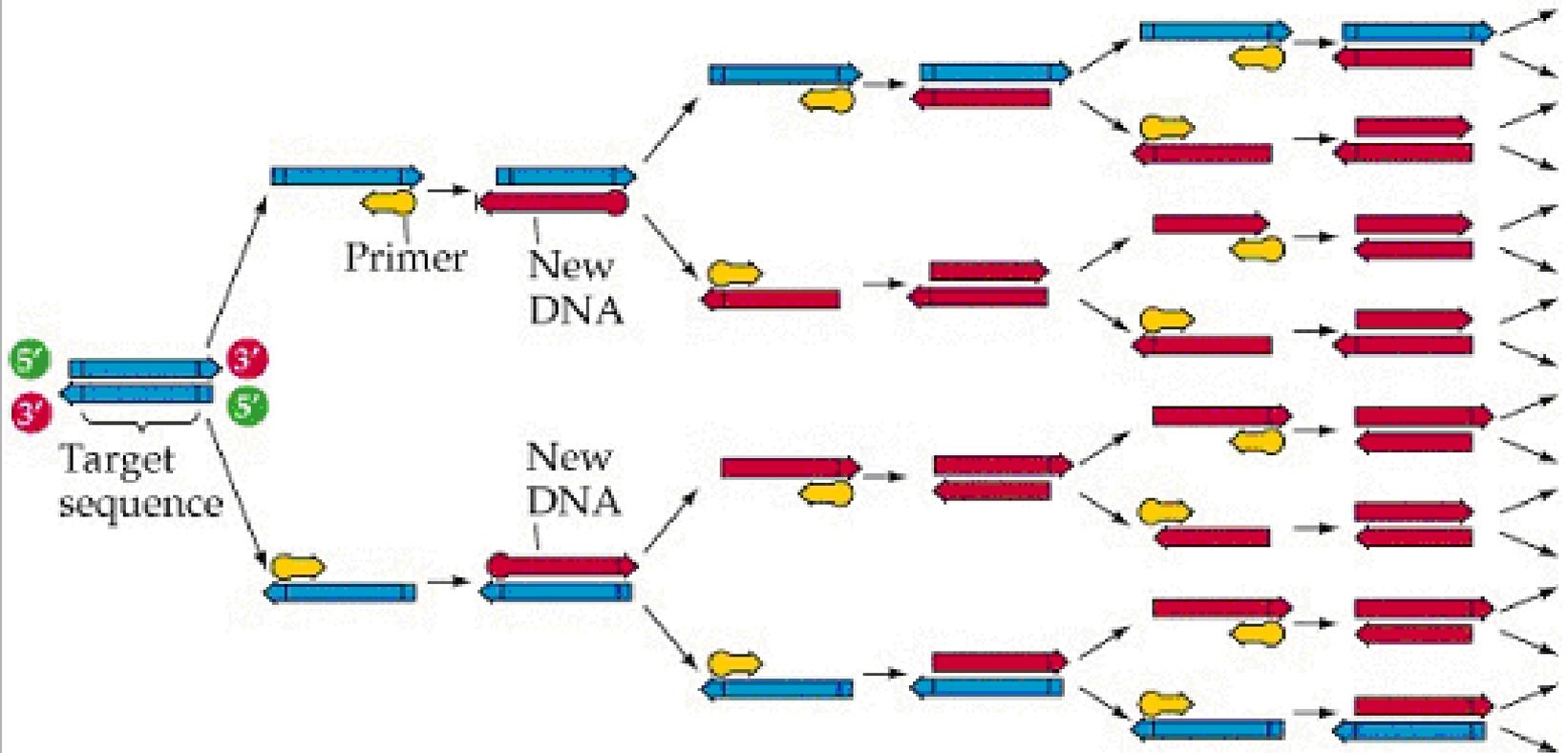


**Step 3 : extension**

2 minutes 72 °C  
**only dNTP's**

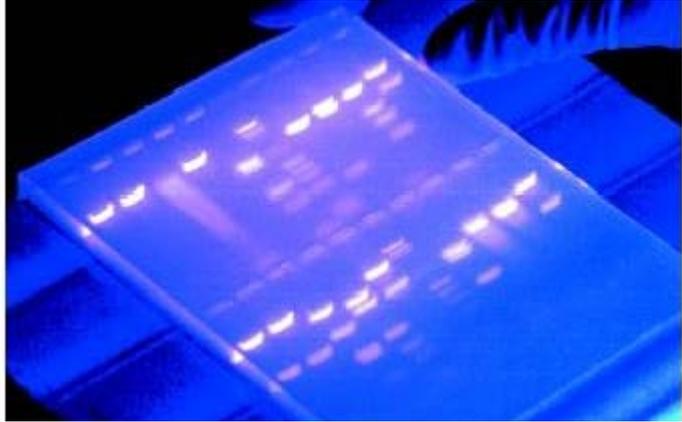


## RESEARCH METHOD



© 2001 Sinauer Associates, Inc.

El número de copias aumenta de forma exponencial

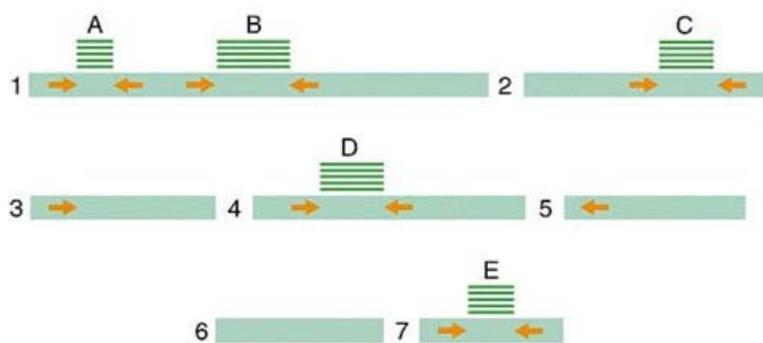


El ADN se ve como una  
banda fluorescente

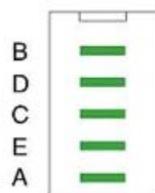
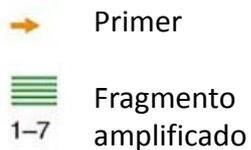


# Amplificación al azar de fragmentos polimórficos (RAPD)

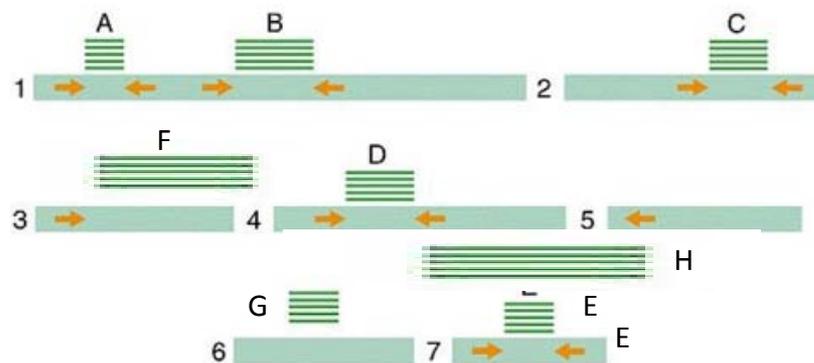
## Organismo 1



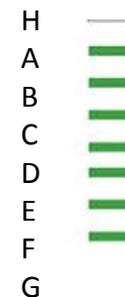
### Electroforesis



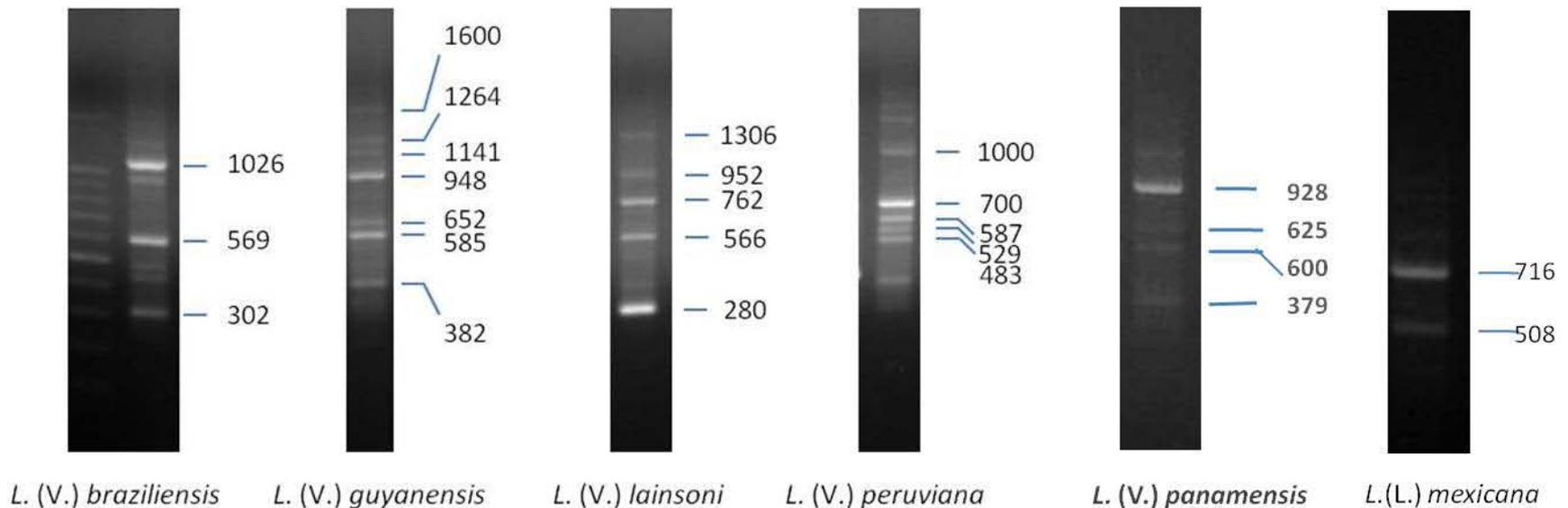
## Organismo 2



### Electroforesis

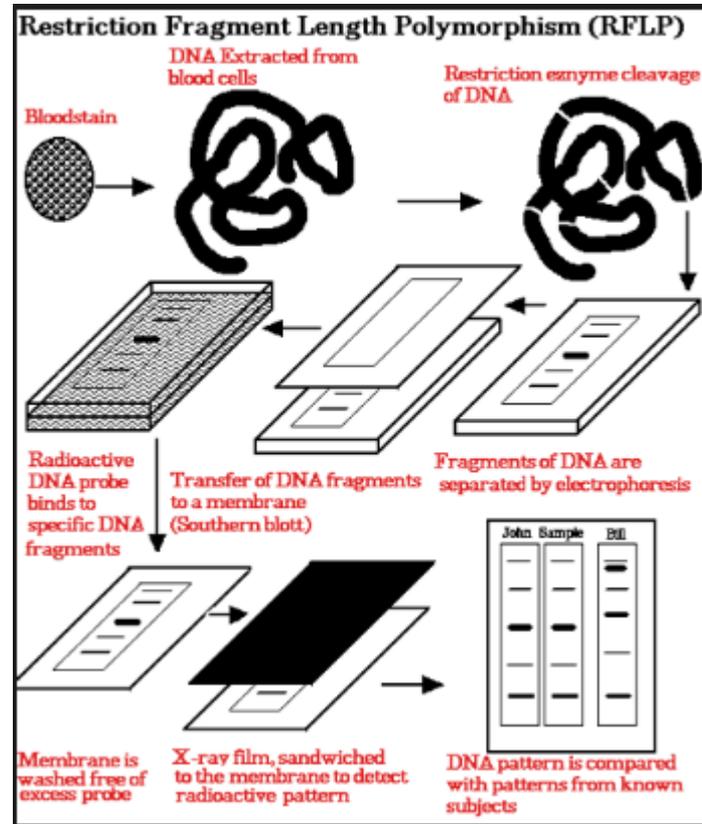


# RAPD para el subgénero Viannia.



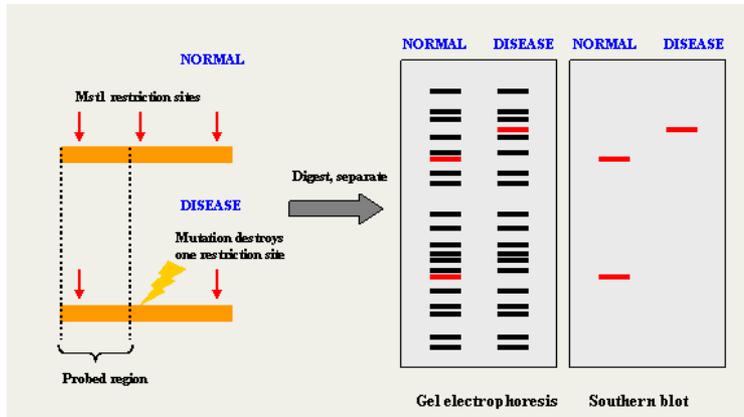
Patrones de amplificación RAPD. En la figura se muestran los distintos amplicones obtenidos para las diferentes especies de *Leishmania*. Los tamaños moleculares han sido calculados con el programa informático Quantity-One.

# Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP)



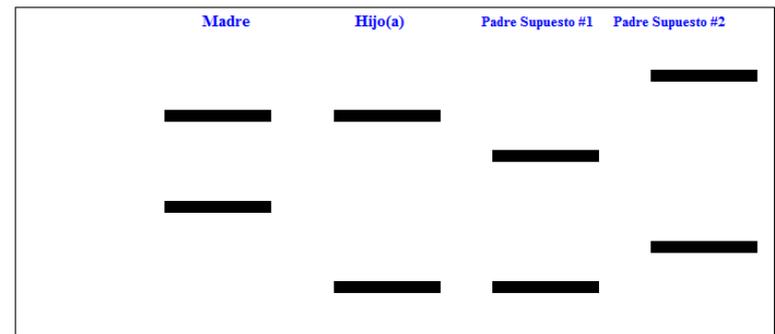
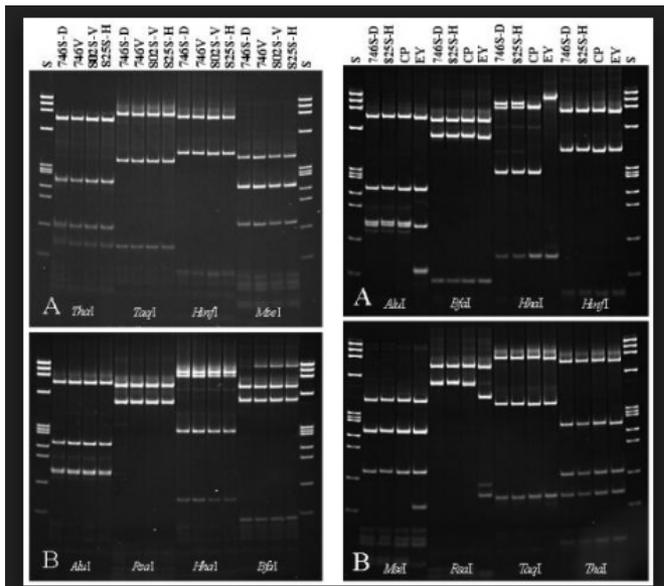
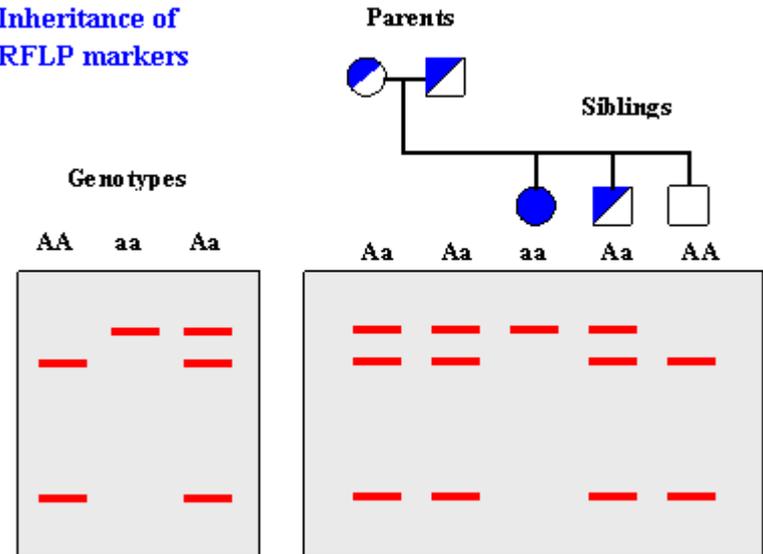
# Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP)

## Detección de enfermedades



## Pruebas de paternidad

### Inheritance of RFLP markers



# Identificación de especies de *Leishmania*: PCR-RFLP del gen hsp70

**Patrones *hsp70*-PCR RFLP.** Resolución en geles de agarosa al 1.8%. 1 y 10: estándares de tamaño molecular de 100 pb.

2. *L. (V.) braziliensis* MHOM/BR/75/M2903,
3. *L. (V.) guyanensis* MHOM/BR/75/M4147,
4. *L. (V.) panamensis* MHOM/PA/71/LS94,
5. *L. (V.) braziliensis* MHOM/PE/95/LQ2,
6. *L. (V.) lainsoni* PAB2891,
7. *L. (V.) peruviana* MHOM/PE/ /L677,
8. *L. (V.) braziliensis* MHOM/BR/75/M2903.

