



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

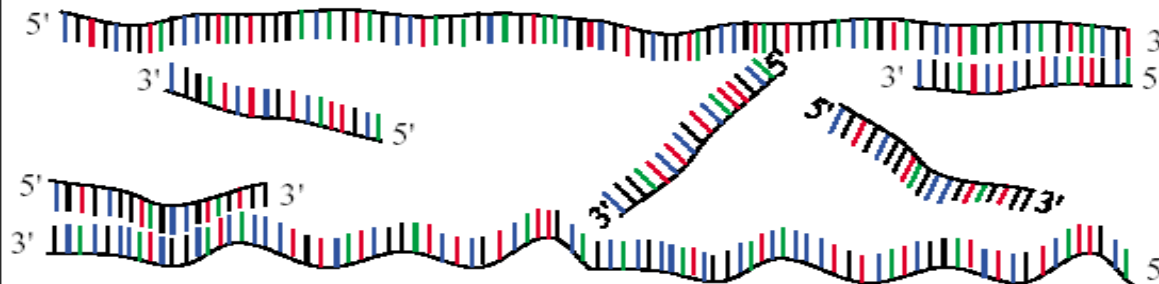
1 minut 94 °C



Step 2 : annealing

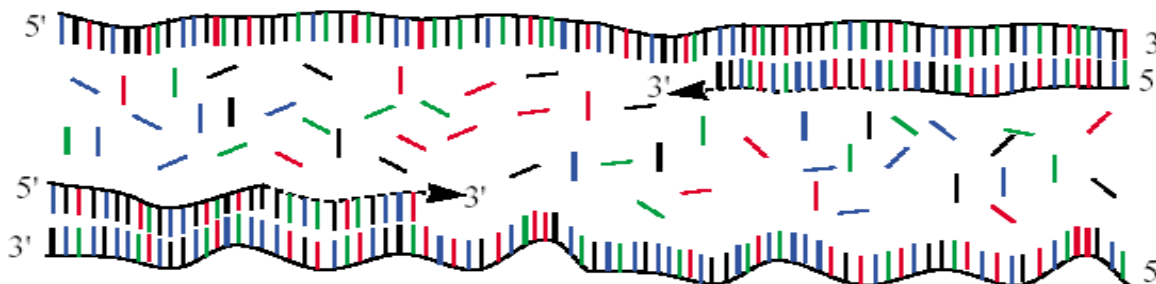
45 seconds 54 °C

forward and reverse primers !!!

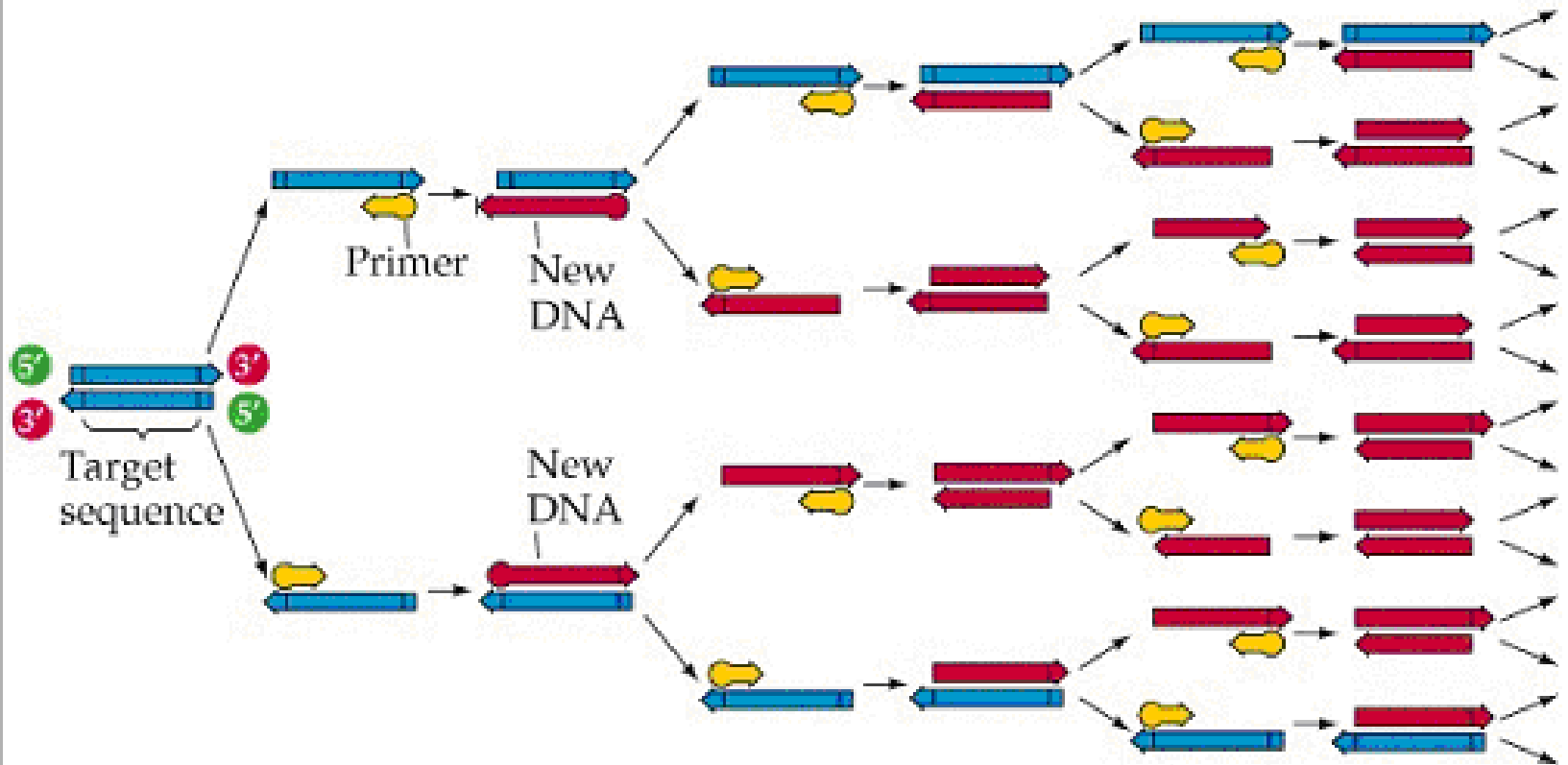


Step 3 : extension

2 minutes 72 °C
only dNTP's

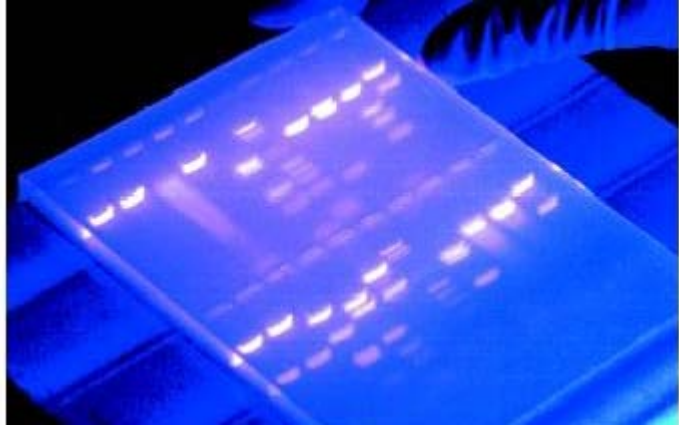


RESEARCH METHOD



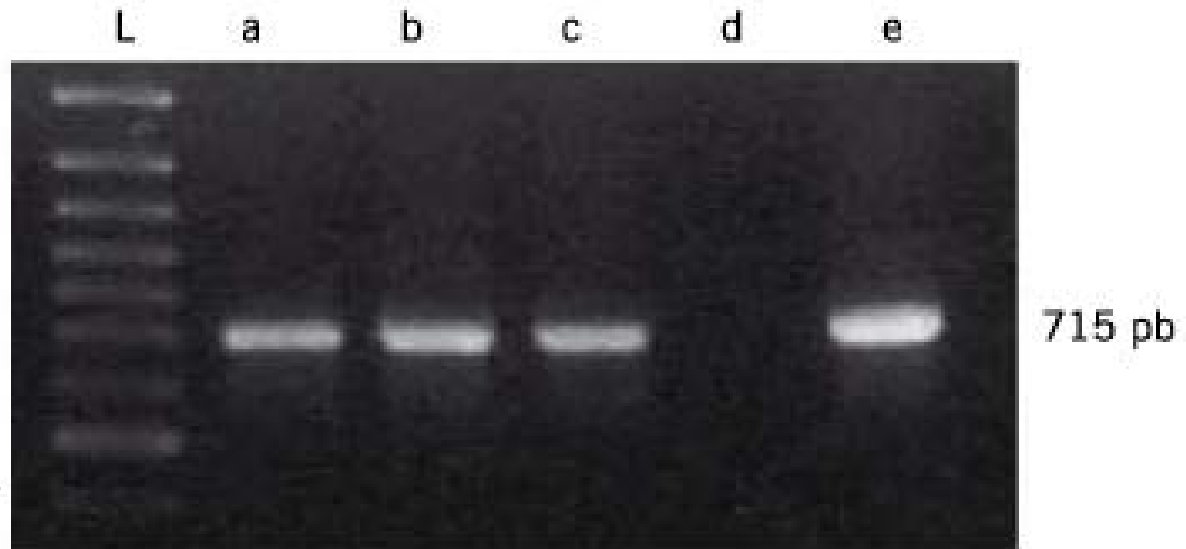
© 2001 Sinauer Associates, Inc.

El número de copias aumenta de forma exponencial



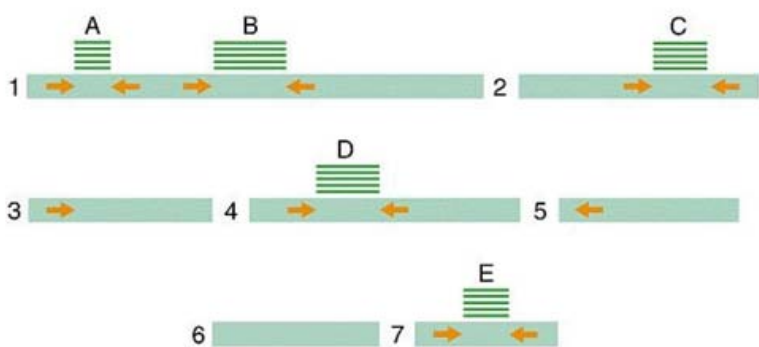
El ADN se ve como una
banda fluorescente

500 pb

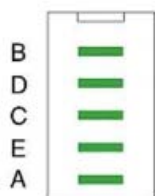
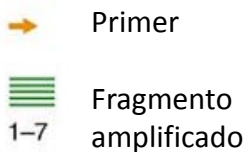


Amplificación al azar de fragmentos polimórficos (RAPD)

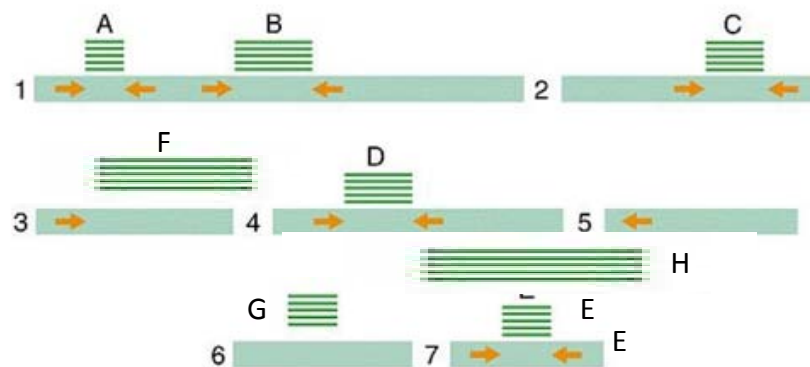
Organismo 1



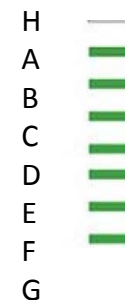
Electroforesis



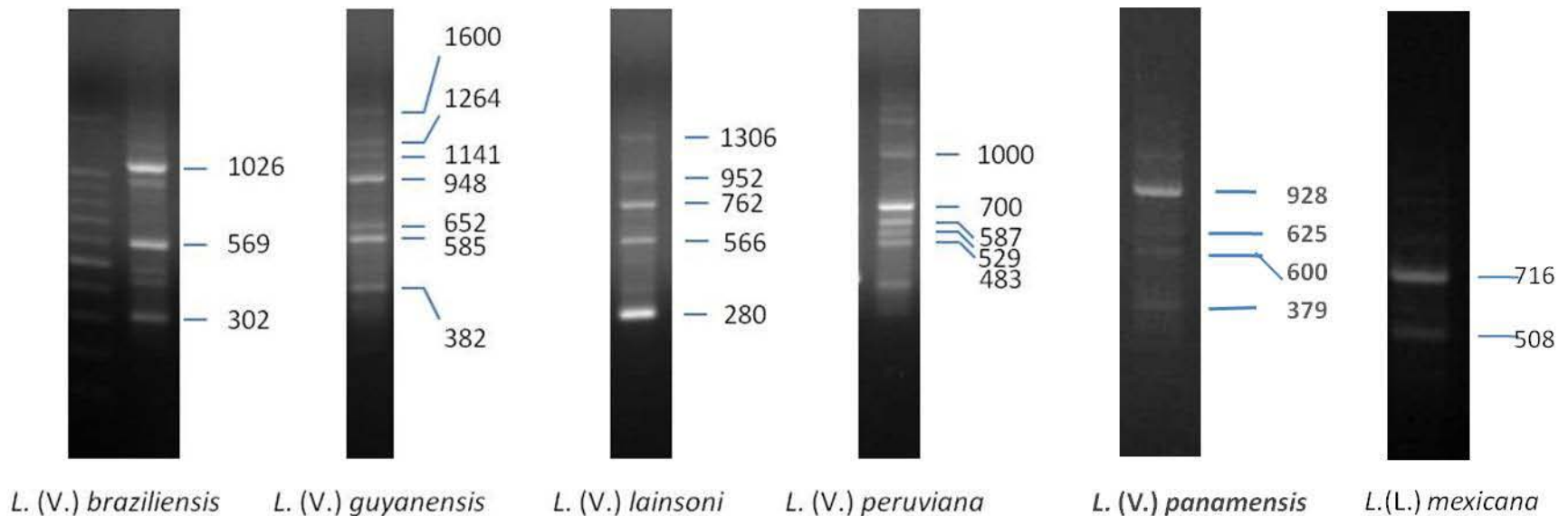
Organismo 2



Electroforesis

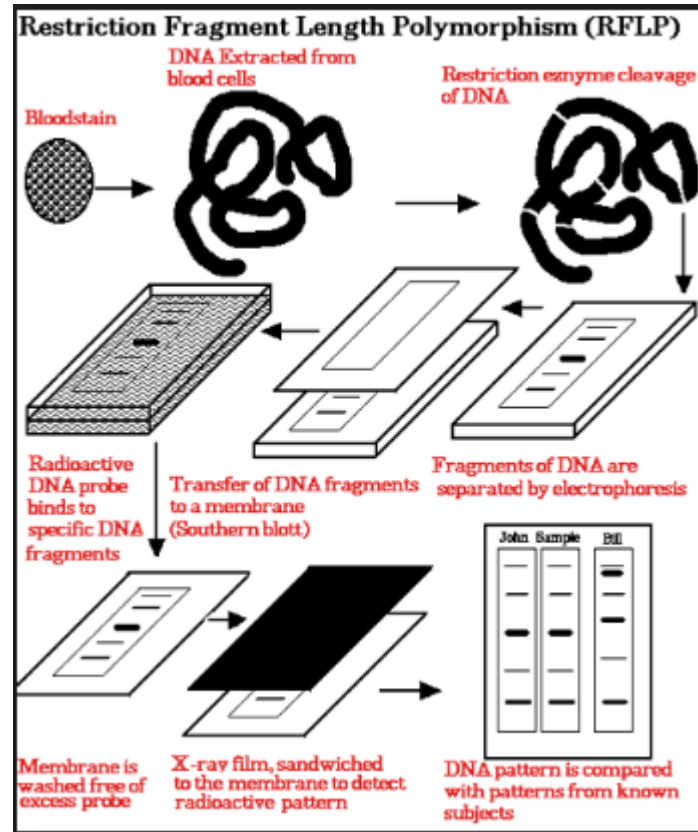


RAPD para el subgénero Viannia.



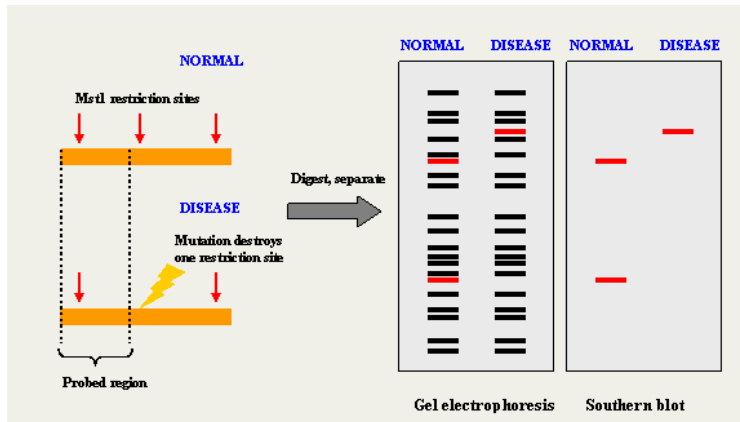
Patrones de amplificación RAPD. En la figura se muestran los distintos amplicones obtenidos para las diferentes especies de *Leishmania*. Los tamaños moleculares han sido calculados con el programa informático Quantity-One.

Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP)



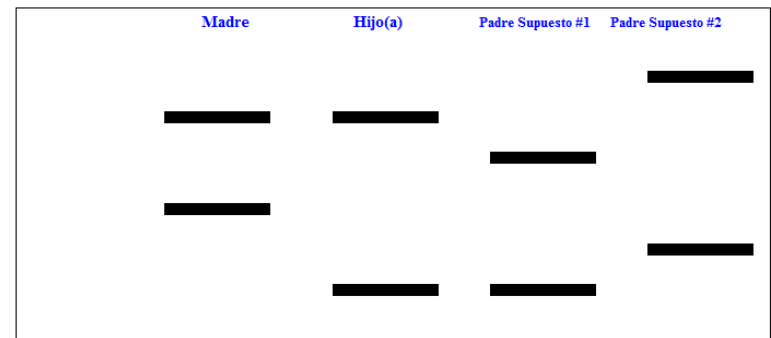
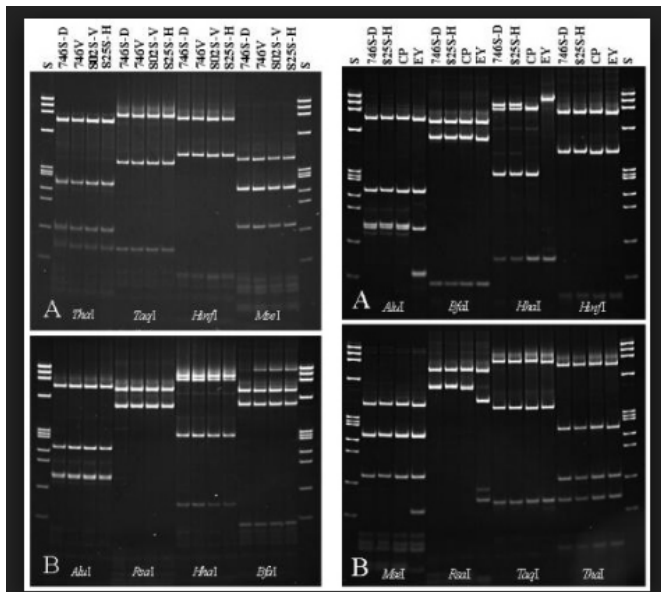
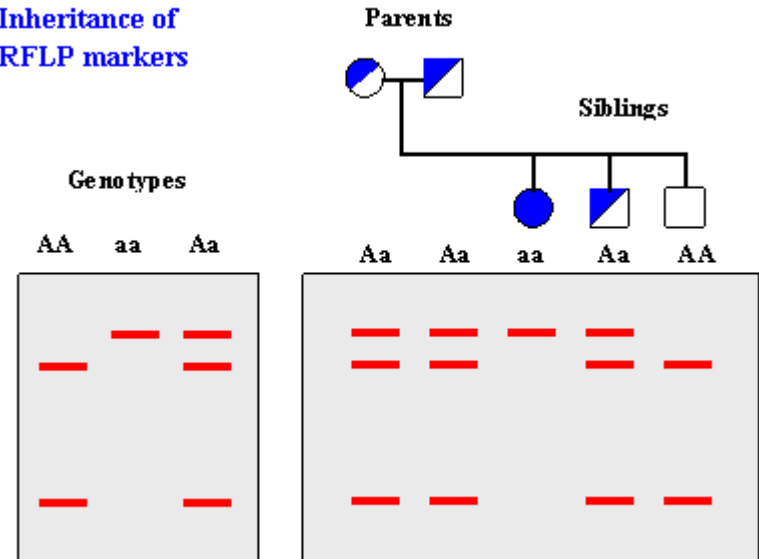
Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP)

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.

