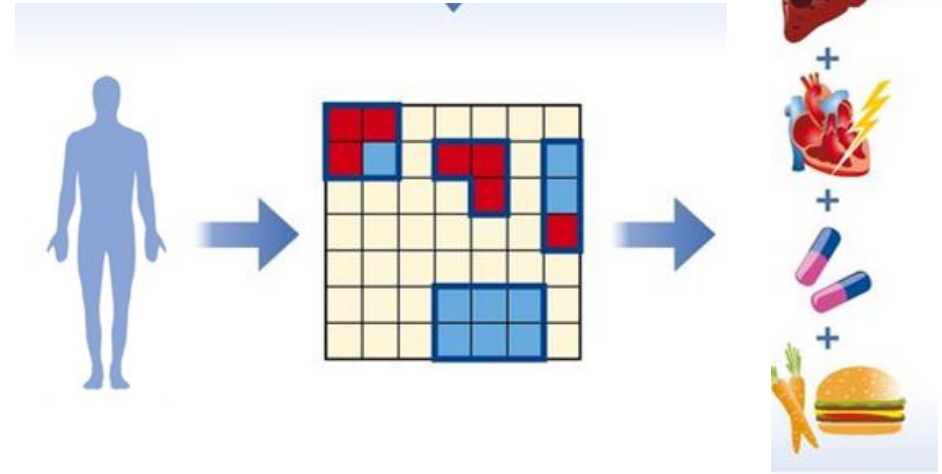
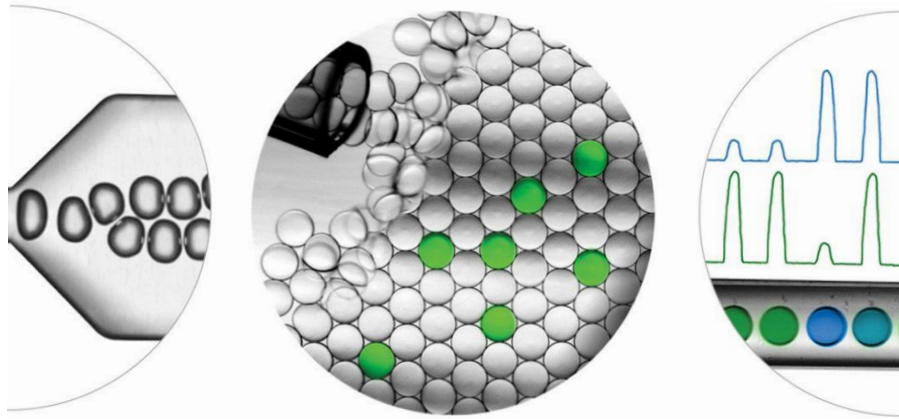
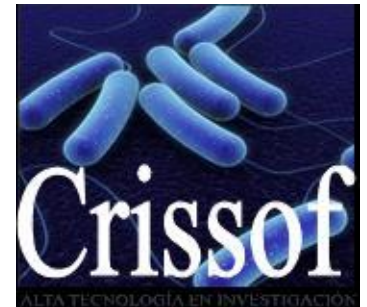
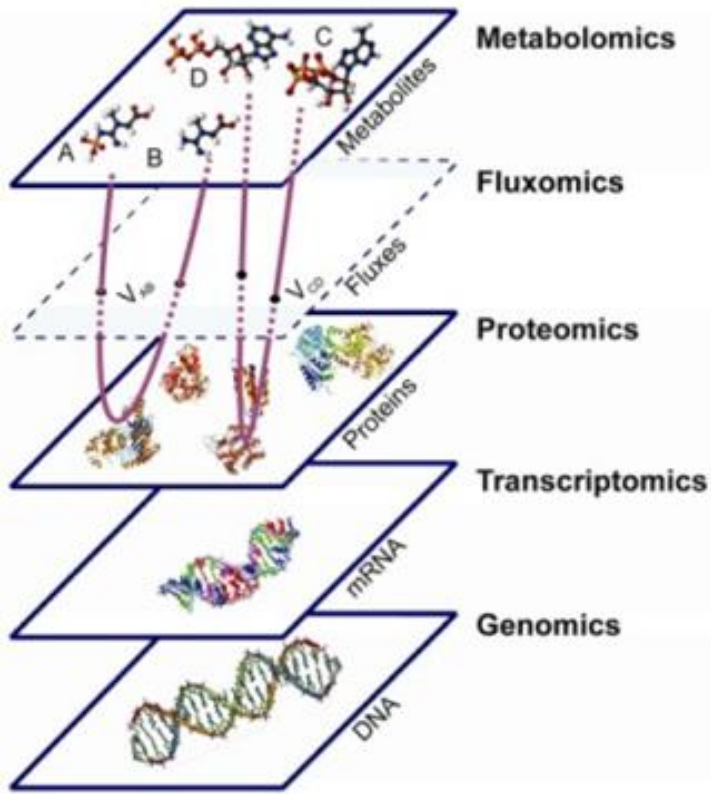


# PCR digital y Ciencias Ómicas: aplicaciones en diagnóstico clínico

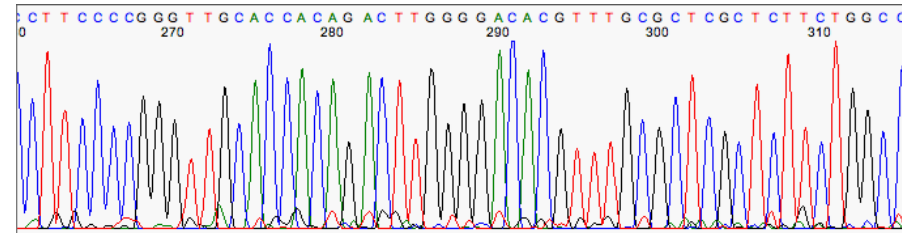


Ulises Carrasco Navarro

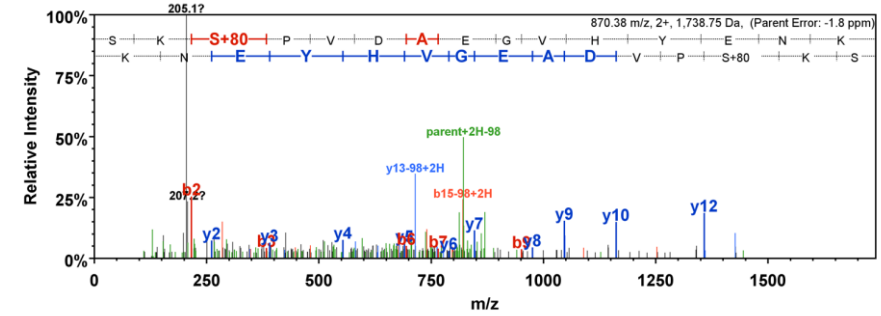




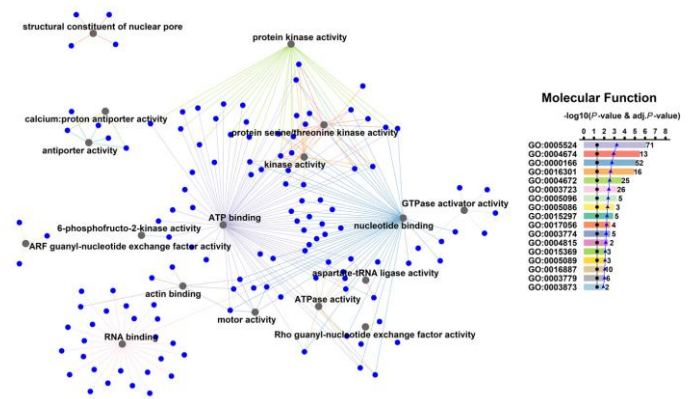
- System biology
- Integrative physiology
- System medicine
- System pharmacology
- Regenerative medicine
- Integrated biomarkers
- Human disease
  - Prediction
  - Diagnostics
  - Treatment efficacy



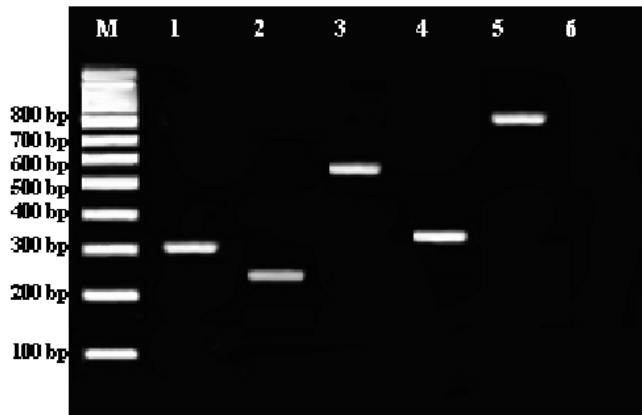
### Secuenciación de ácidos nucleicos



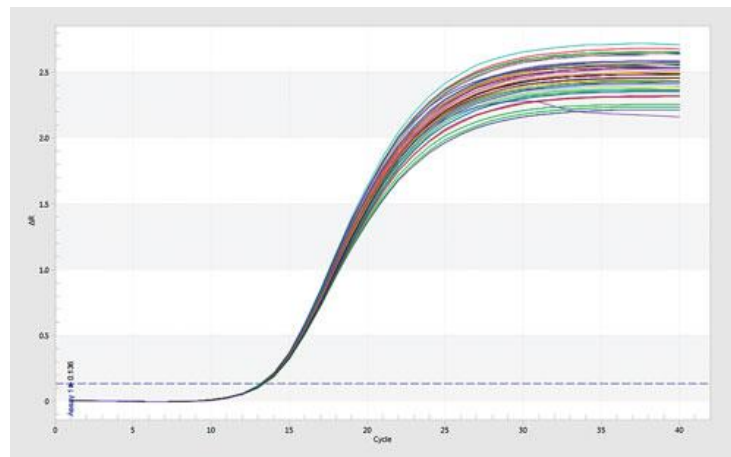
### Espectrometría de masas



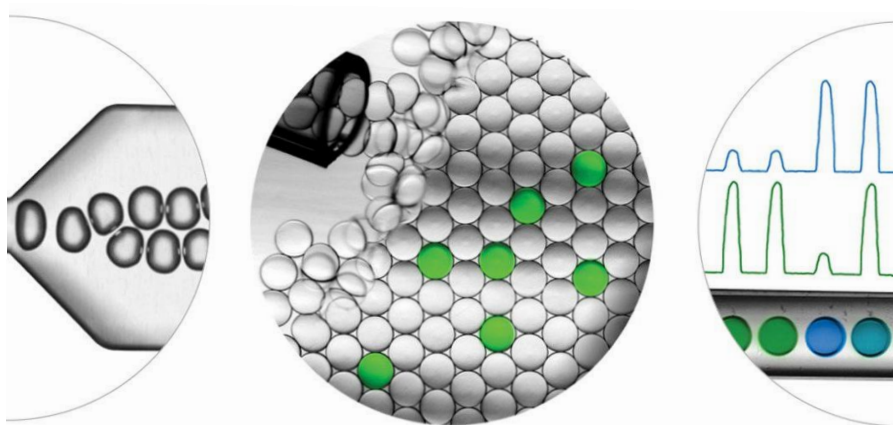




PCR punto final



PCR tiempo real



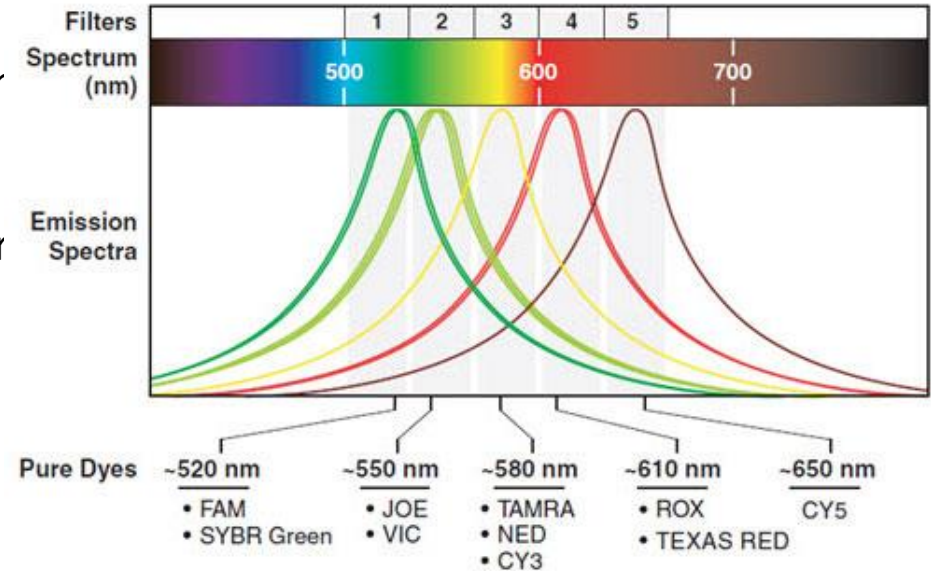
PCR digital (ddPCR)

## Para recordar:

Para la amplificación por PCR en tiempo real además de los reactivos que se emplean en la PCR punto final

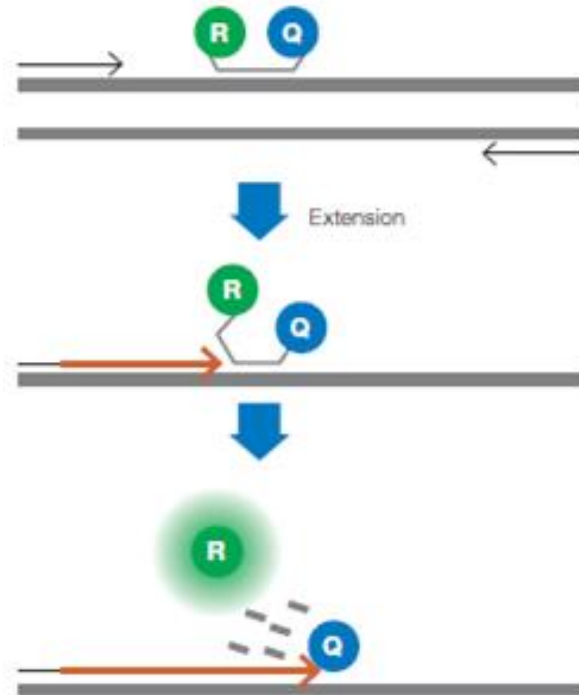
Debido a que la fluorescencia de estos aumenta confor

El sistema fluorométrico consiste en una fuente de ener



# Sondas de hidrólisis

Entre las mas utilizadas se encuentran



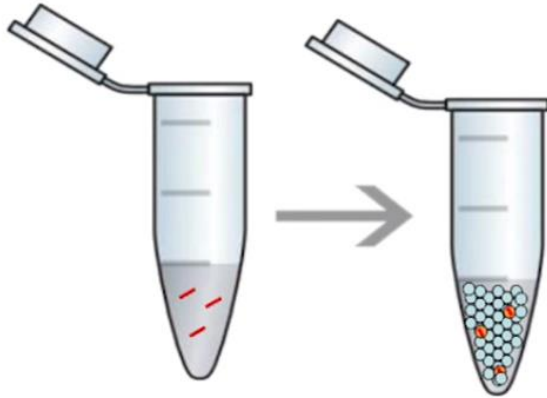
During annealing, the hydrolysis probe binds to the target sequence

During extension, the probe is partially displaced and the reporter is cleaved. The free reporter fluoresces

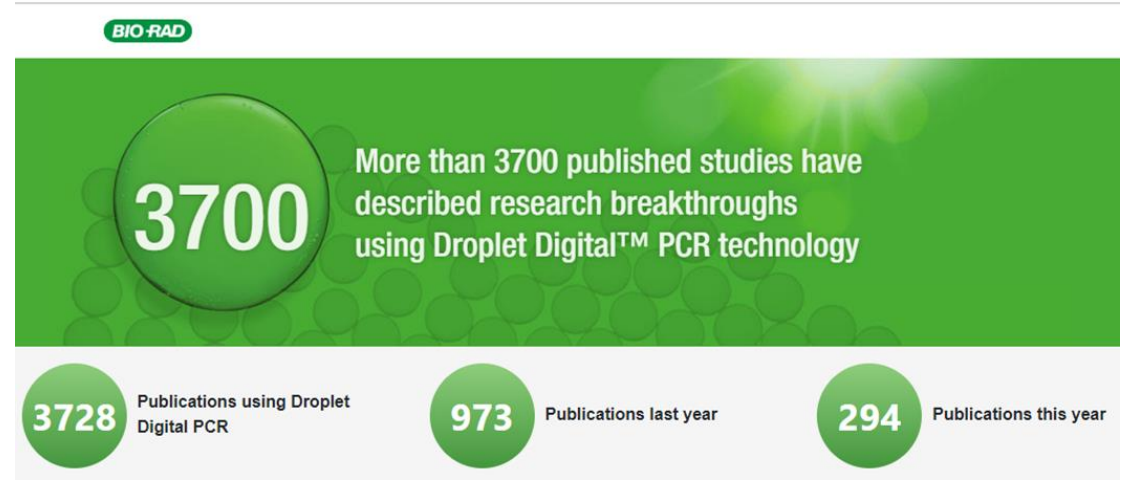
**R** Reporter    **Q** Quencher

# ¿Que es la PCR Digital?

- Es una método que emplea una tecnología basada en microfluidos para la formación de nano gota
- Esta nueva tecnología es empleada para la identificación y cuantificación de secuencias de ADN o
- La técnica es de alta resolución y absoluta cuantificación



En la PCR Digital, una muestra de PCR es particionada en aproximadam



El ddPCR fue desarrollado con el fin de obtener una cuantificación absoluta de secuencias de pacidos m

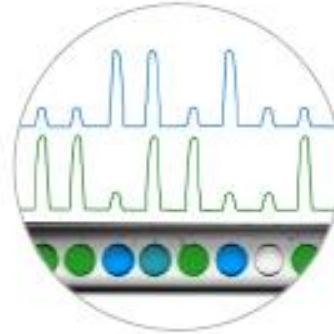
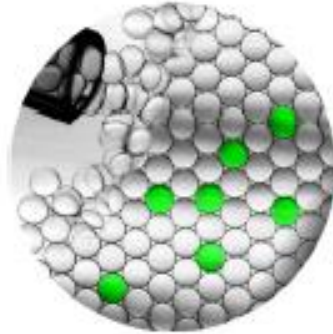
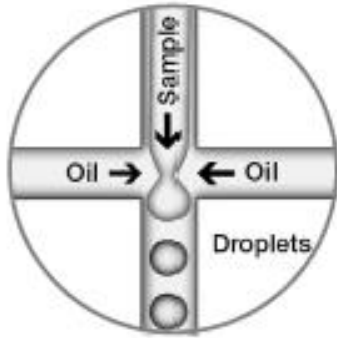


# Bio-Rad QX200™ Droplet Digital PCR System

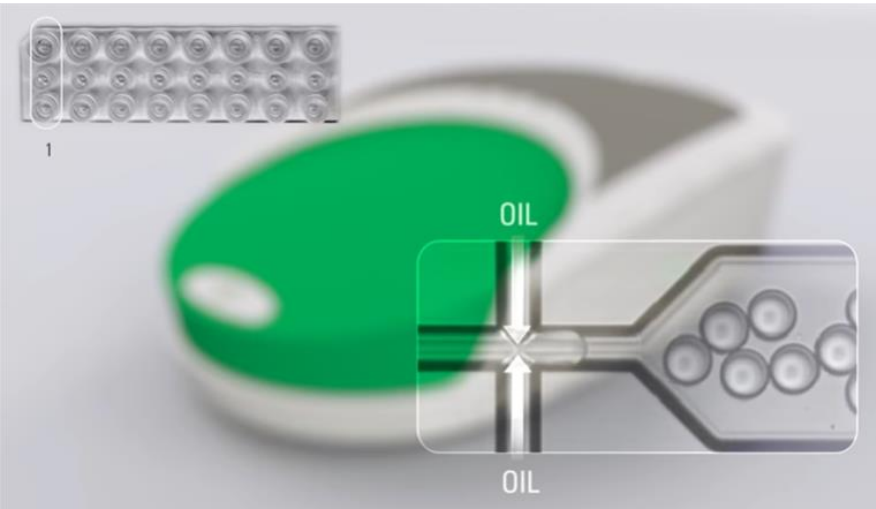
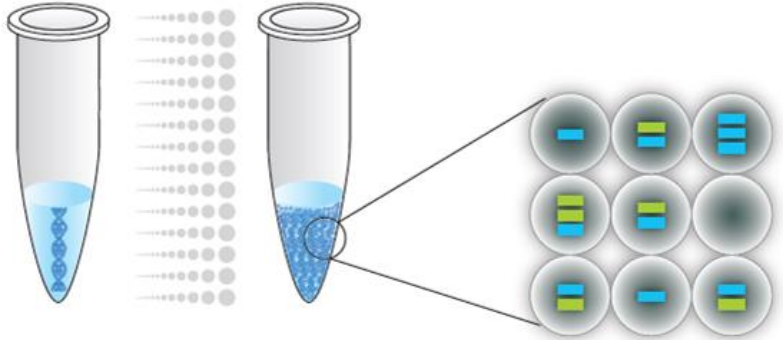
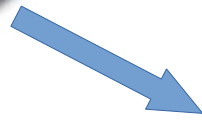
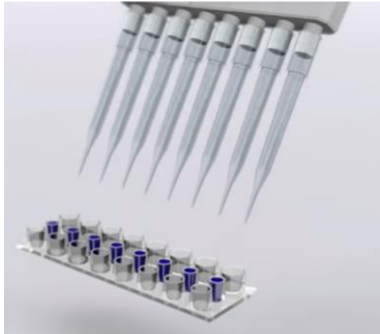


## Flujo de trabajo en la ddPCR

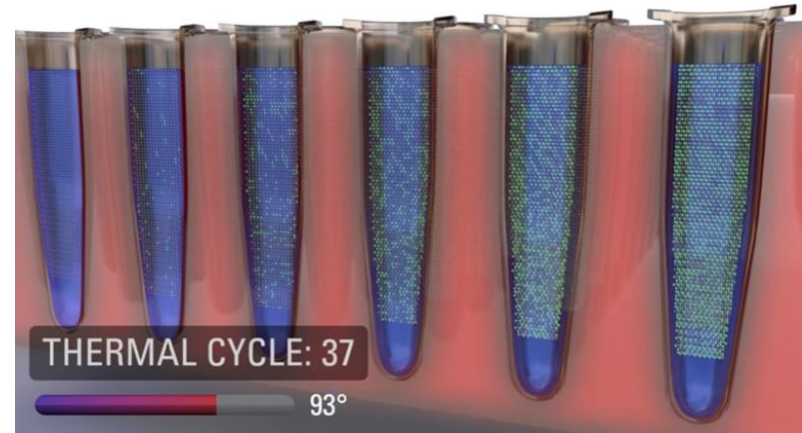
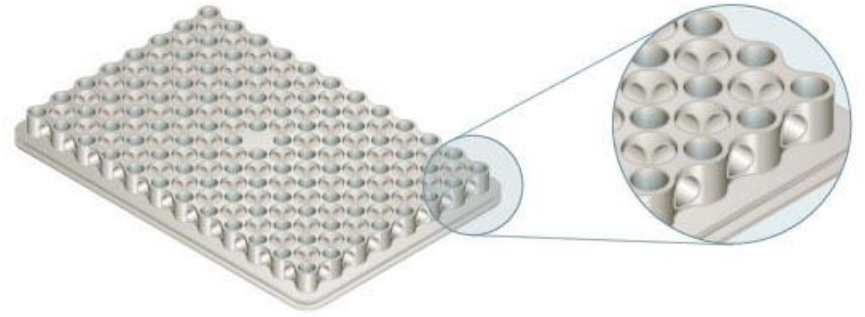
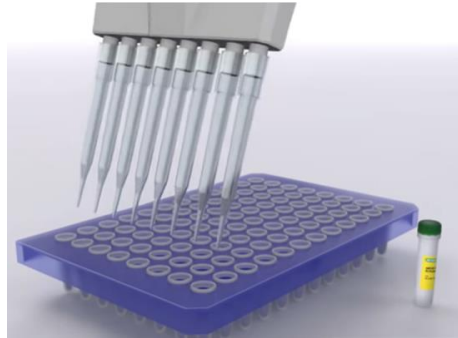
- Partición de la muestra en miles de gotas
- Llevar la muestra al termociclador (**PCR punto final**)
- Detección y cuantificación de gotas positivas (fluorescencia), y productos negativos de la PCR
- Lectura digital de las muestras: cuantificación de la(s) secuencia(s) de ADN de interés



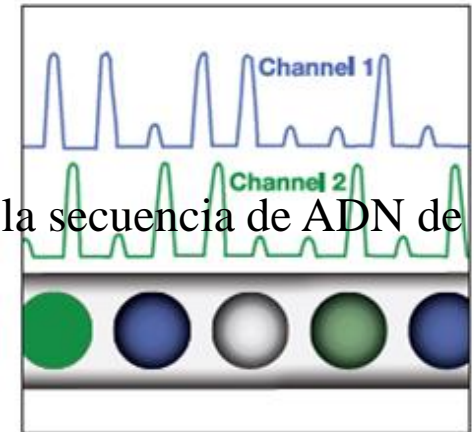
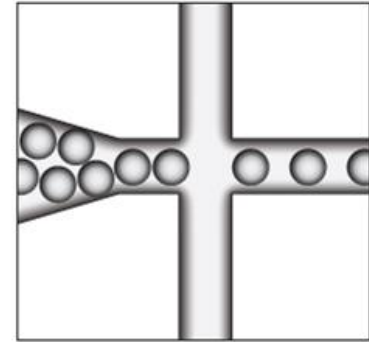
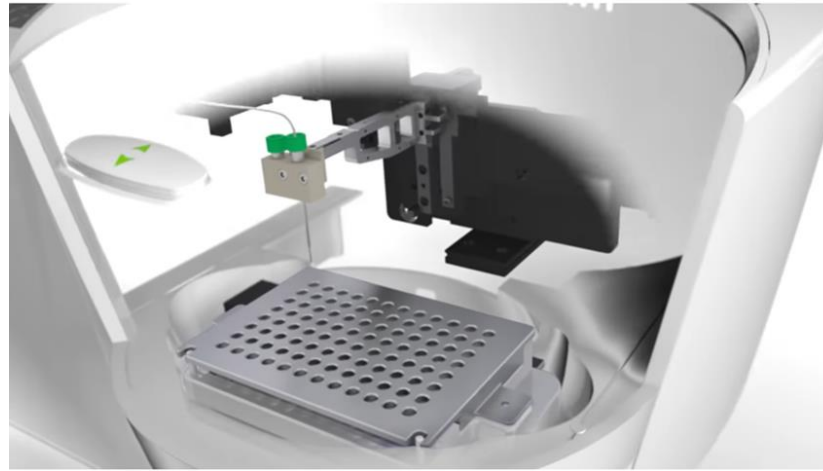
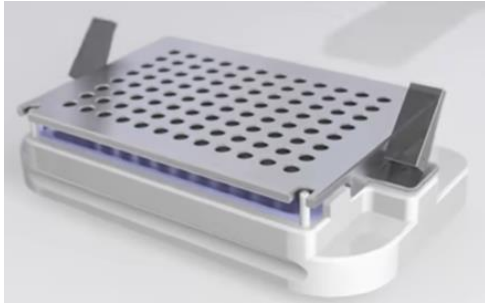
# •Generación de gotas



# •Amplificación por PCR

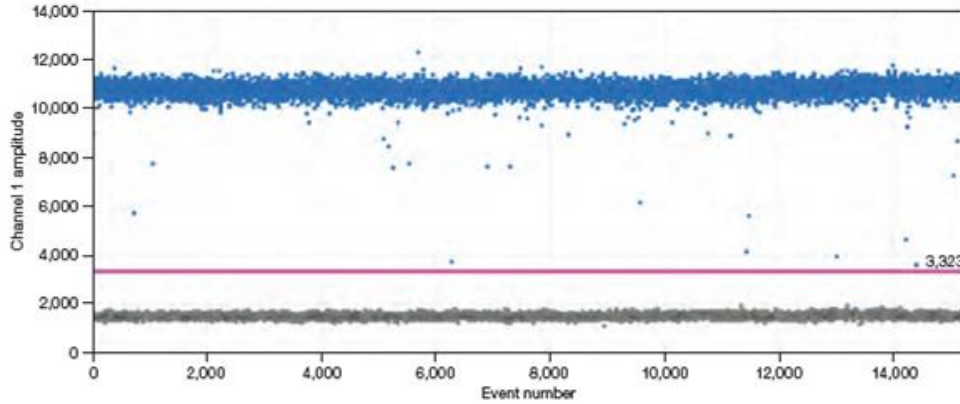


# •Lectura de las gotas

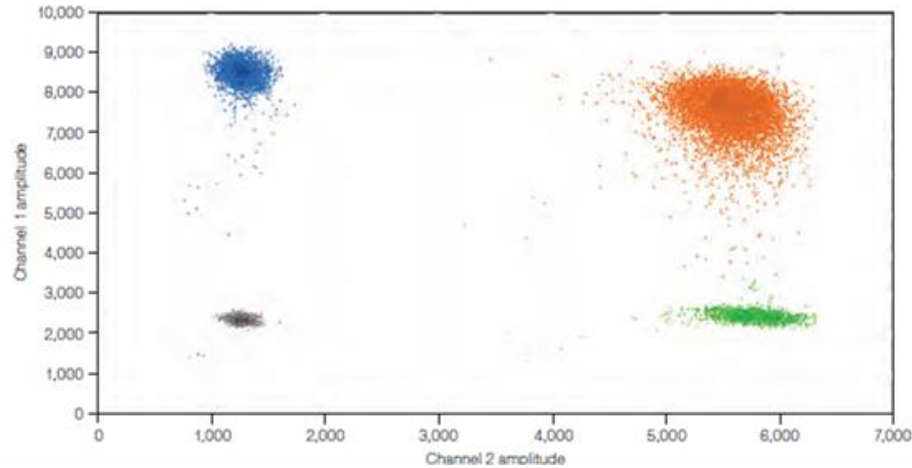


Las gotas positivas contienen al menos una copia de de la secuencia de ADN de interés.

# •Análisis



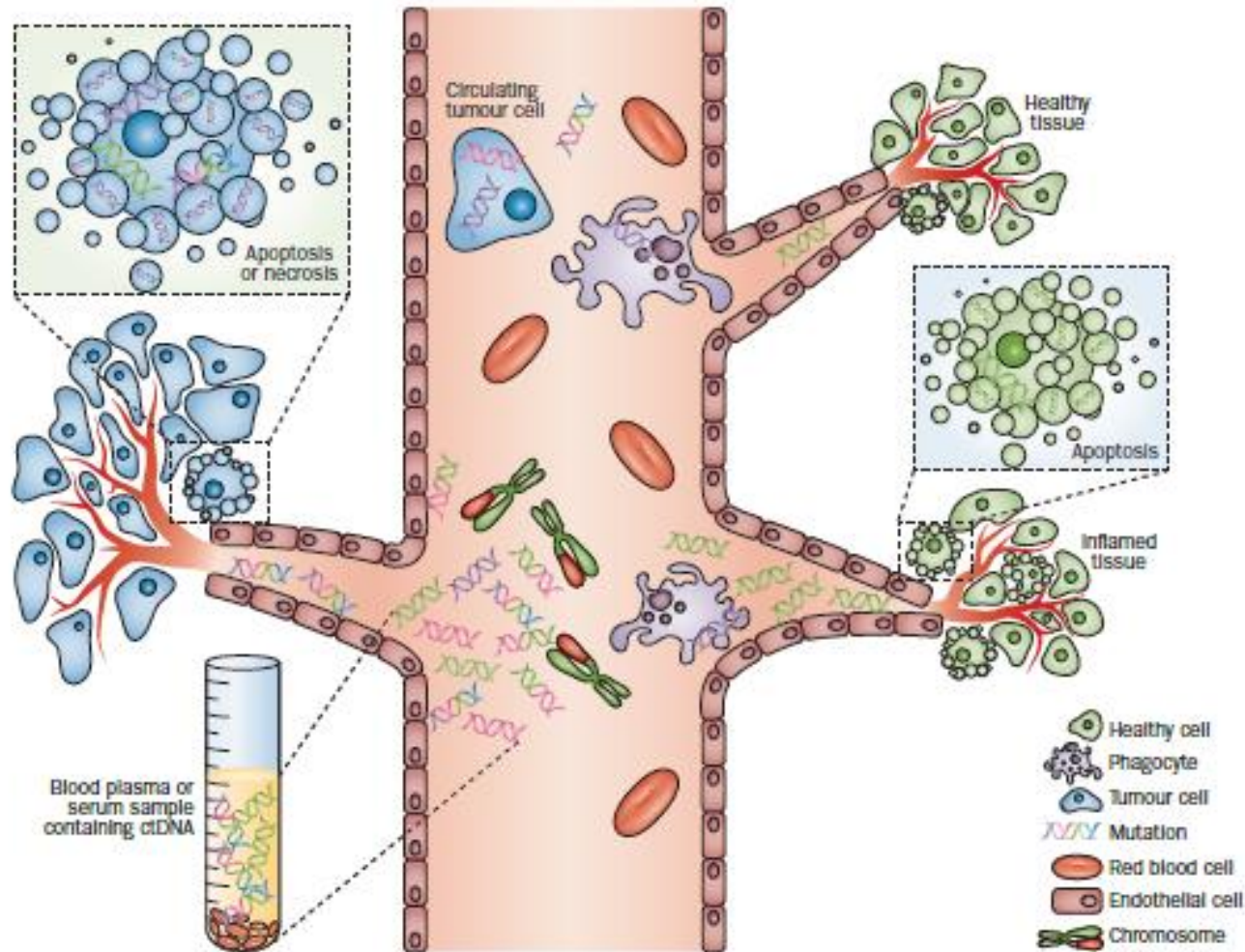
Gotas positivas (incremento de fluorescencia)



Experimentos duplex: se visualiza dos secuencias

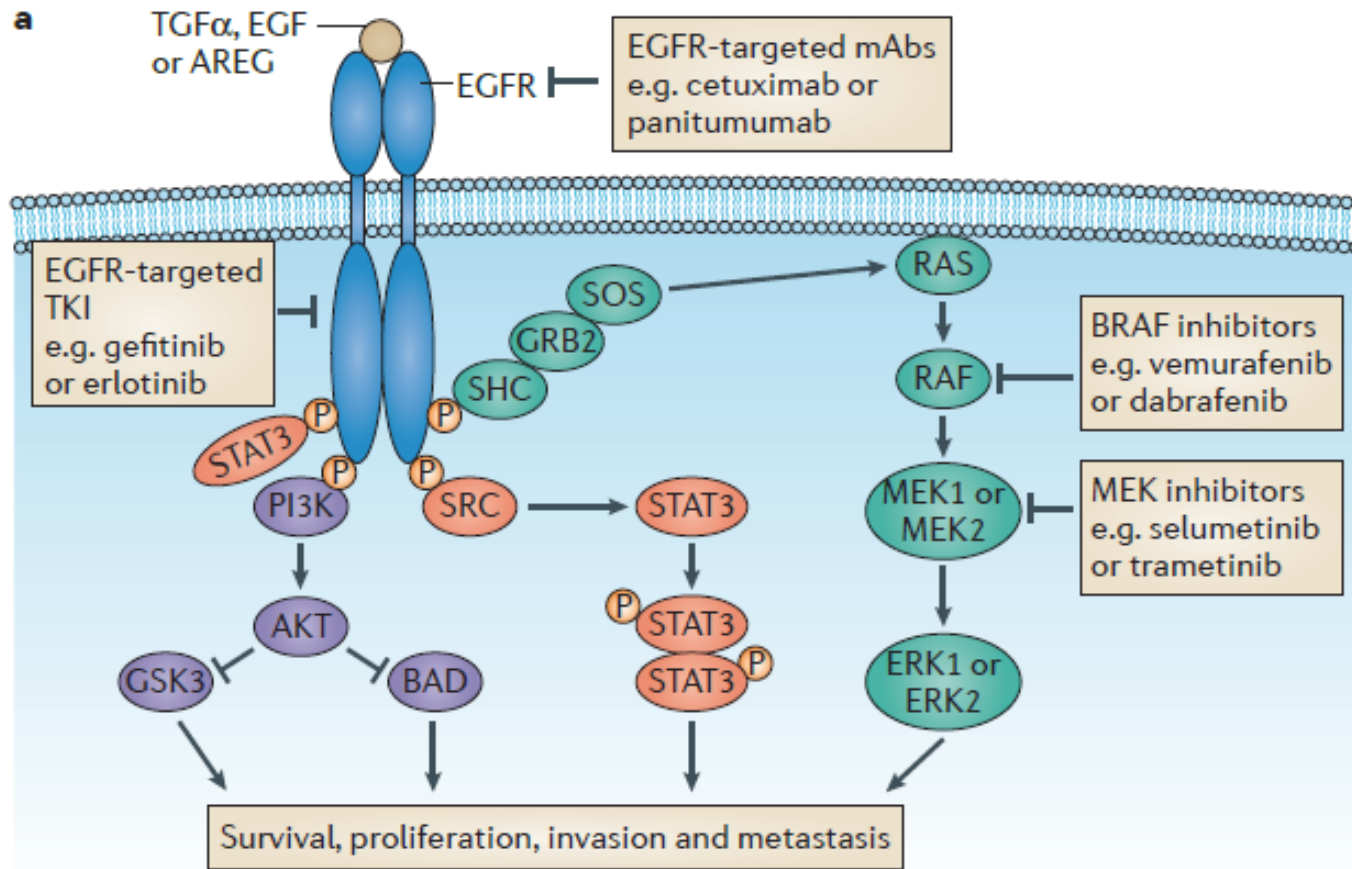
# Aplicaciones

- Carga Viral
- Identificación de microorganismos
- Expresión génica
- Detección de secuencias atípicas (células cancerígenas en una población celular)
- Alteraciones genómicas
- Validación de edición genómica por CRISPR-Cas9



**Biopsias líquidas: uso potencia**

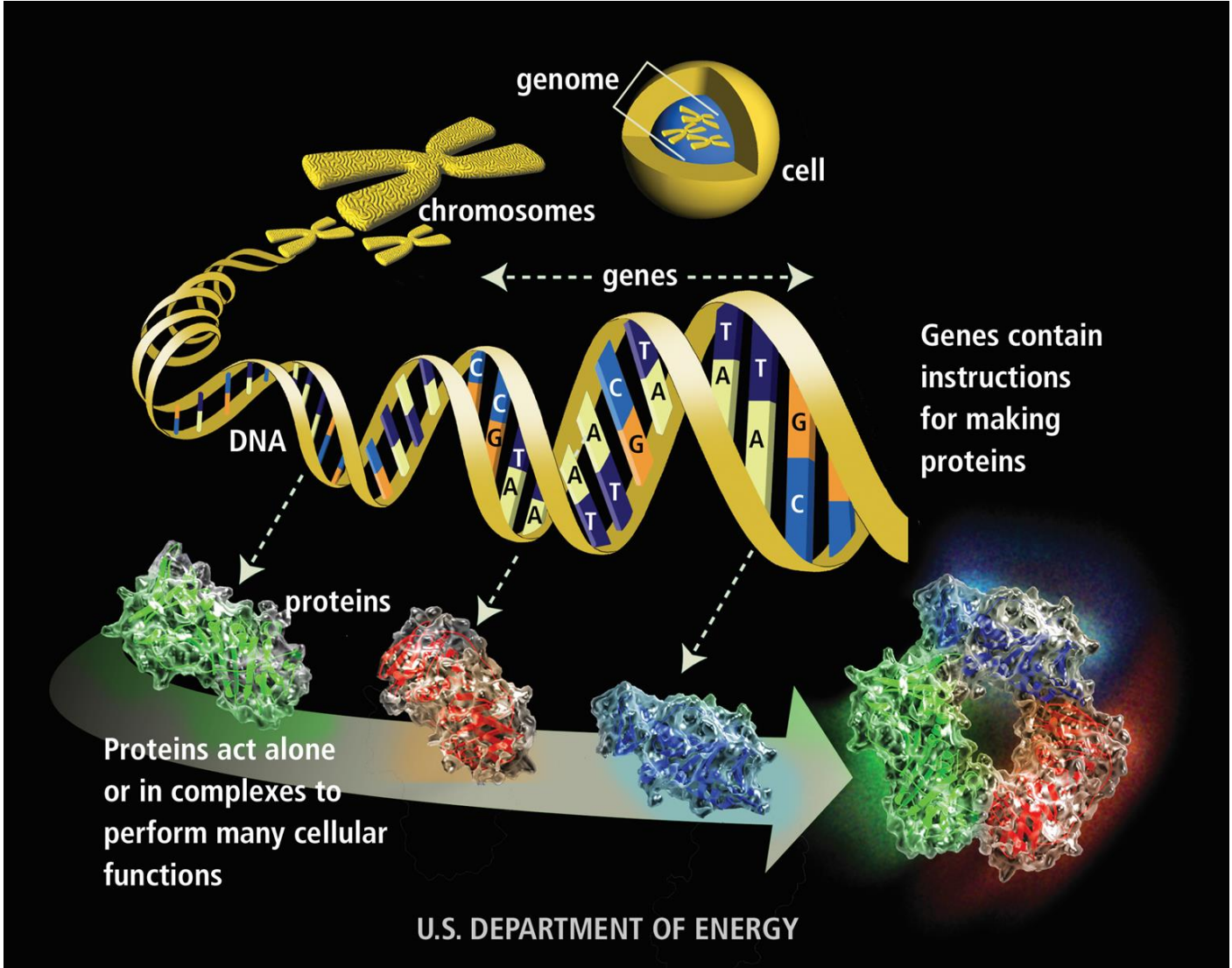


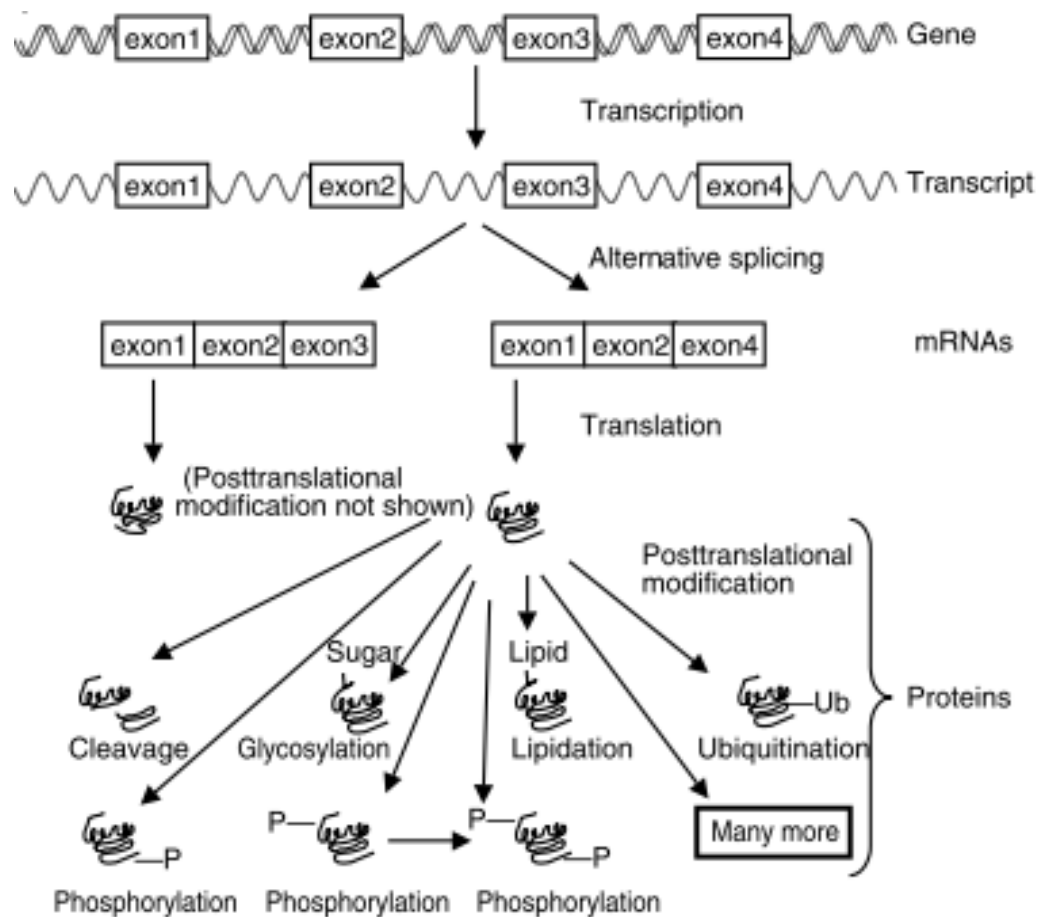
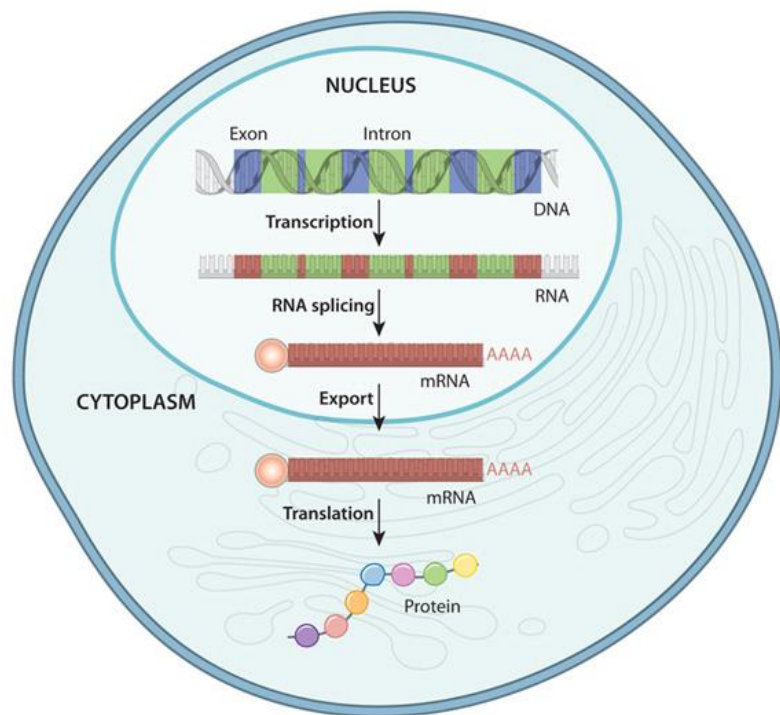


• *BRAF* se encuentra mutado en alr

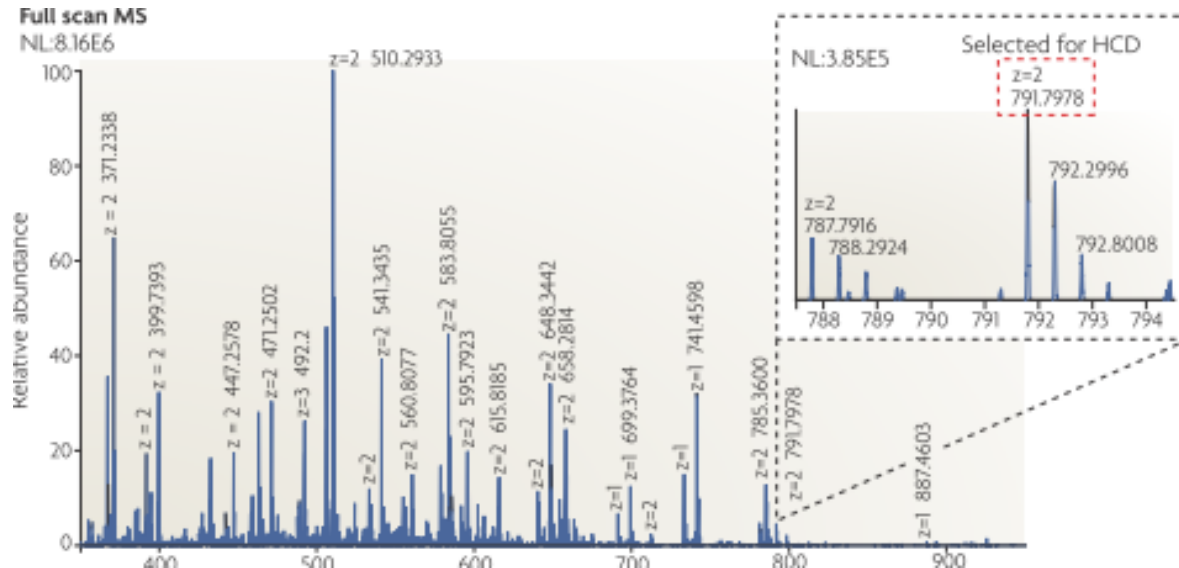
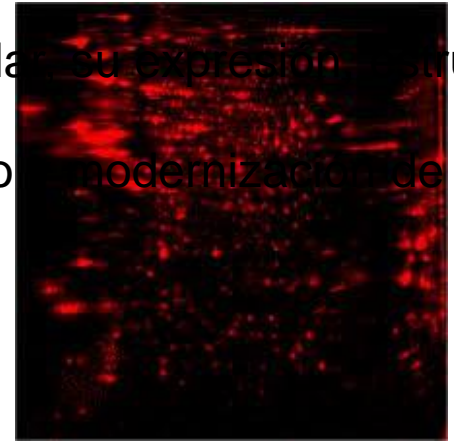
• Los inhibidores de esta proteína ti

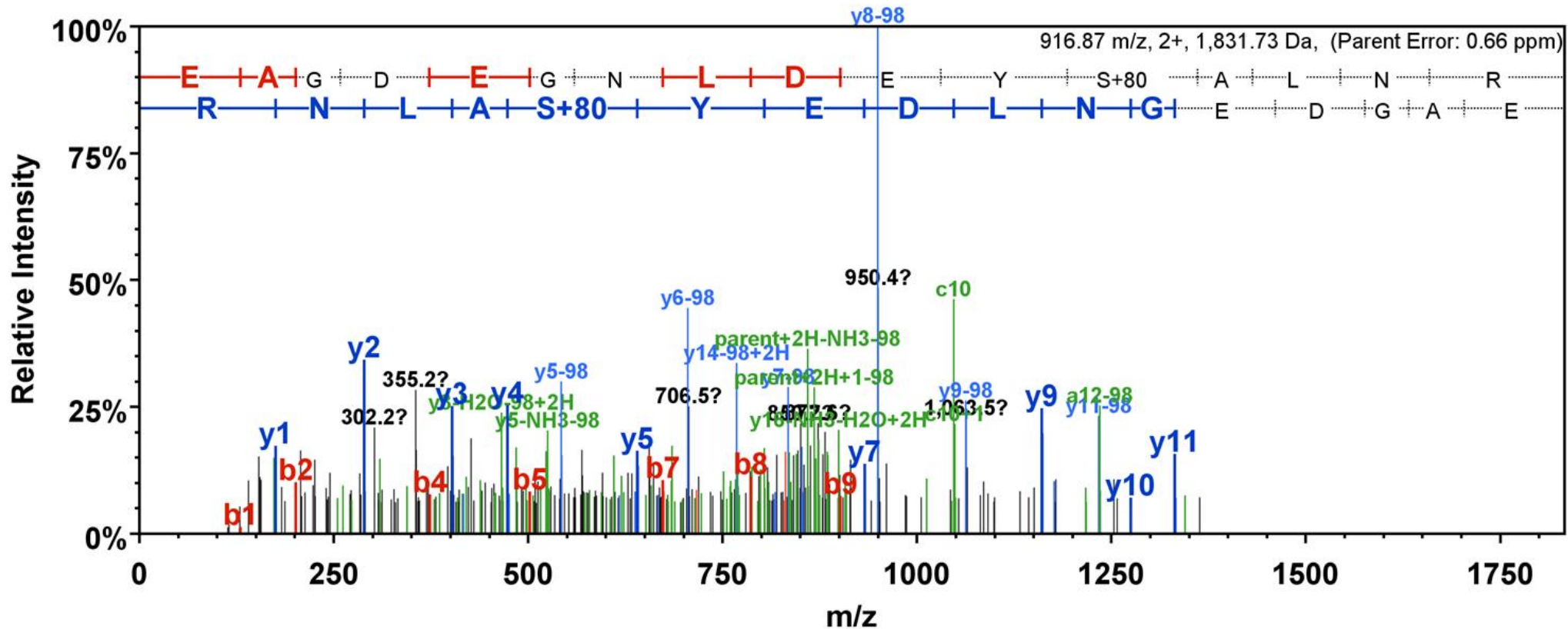
**Considerar que:**

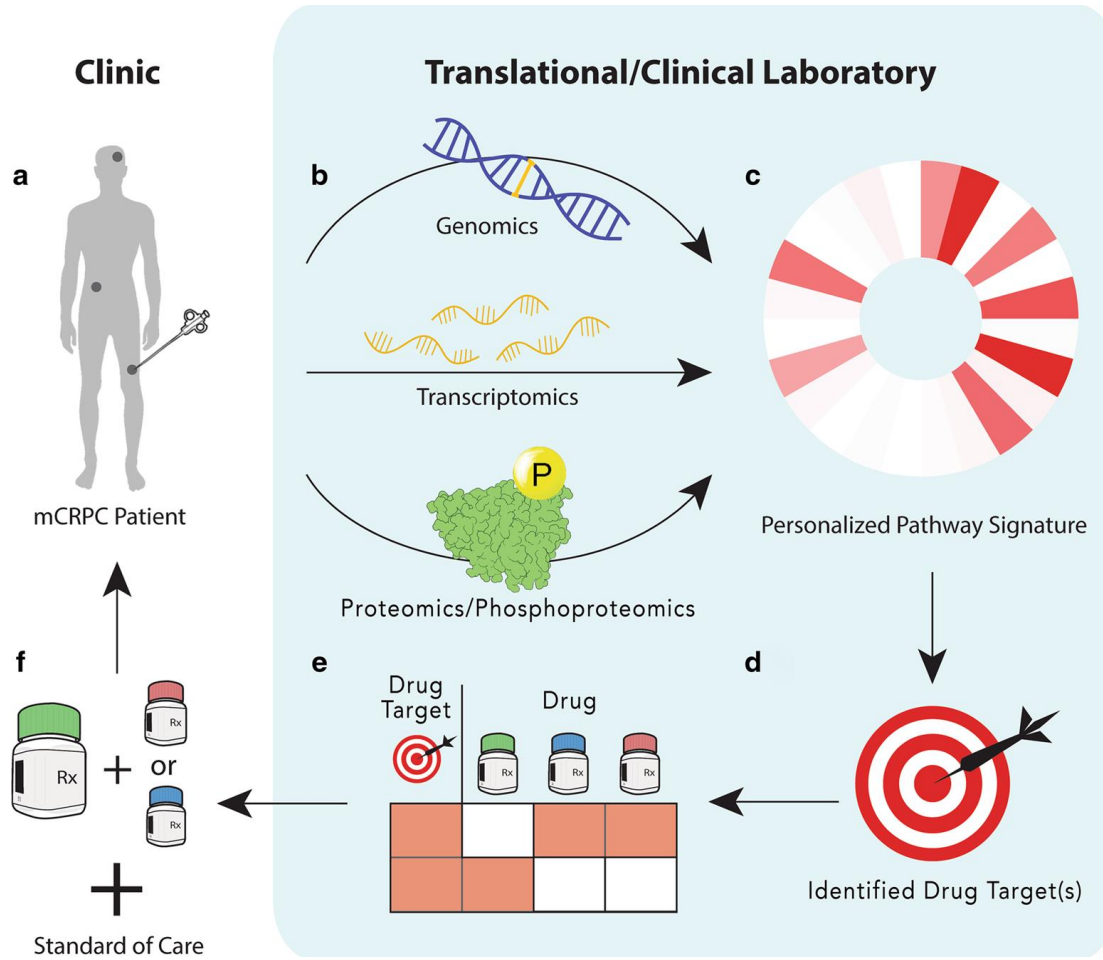




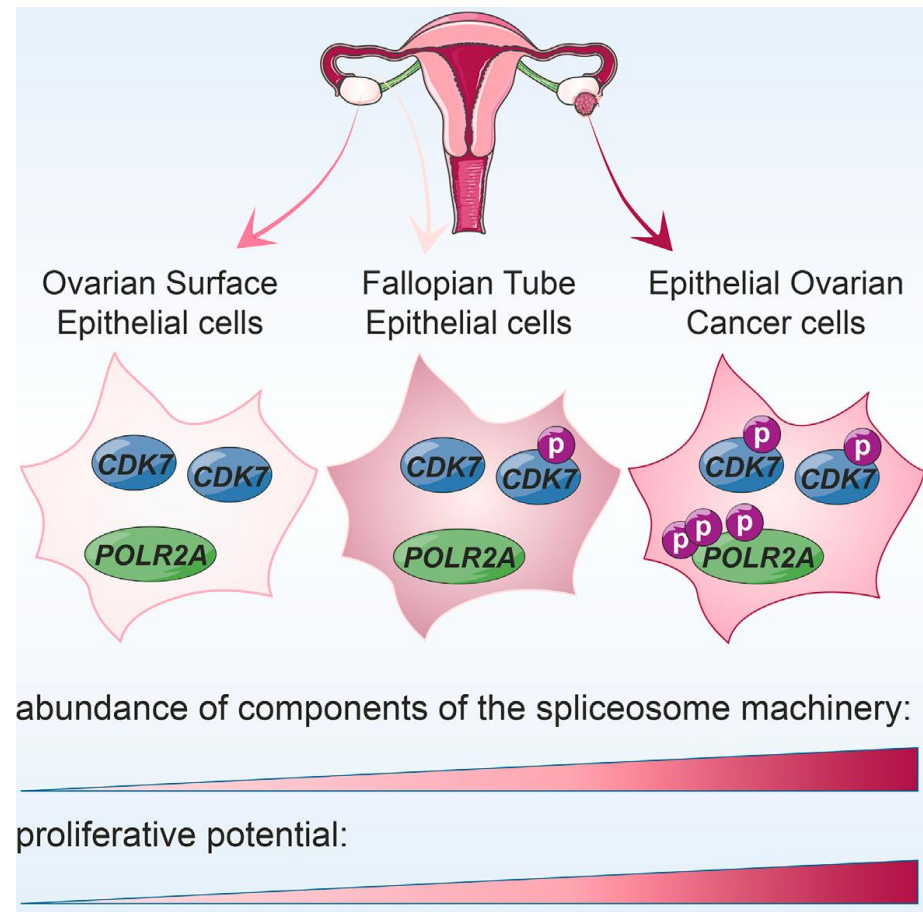
- La proteómica es el estudio a gran escala de las proteínas, en particular su expresión y estructura.
- El gran avance en los estudios proteómicos se da gracias al desarrollo y modernización de la espectrometría de masas.



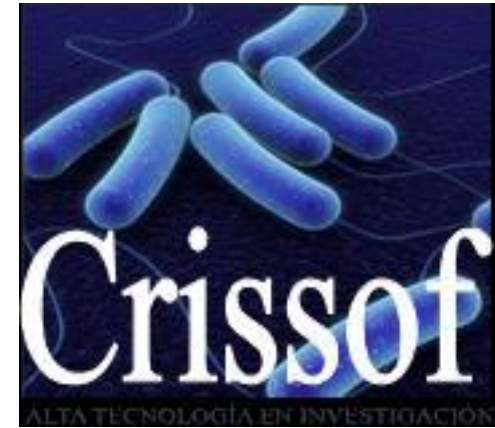




Clin Trans Med (2017) 6:9



Cell Reports 18, 3242–3256



## Agradecimientos

