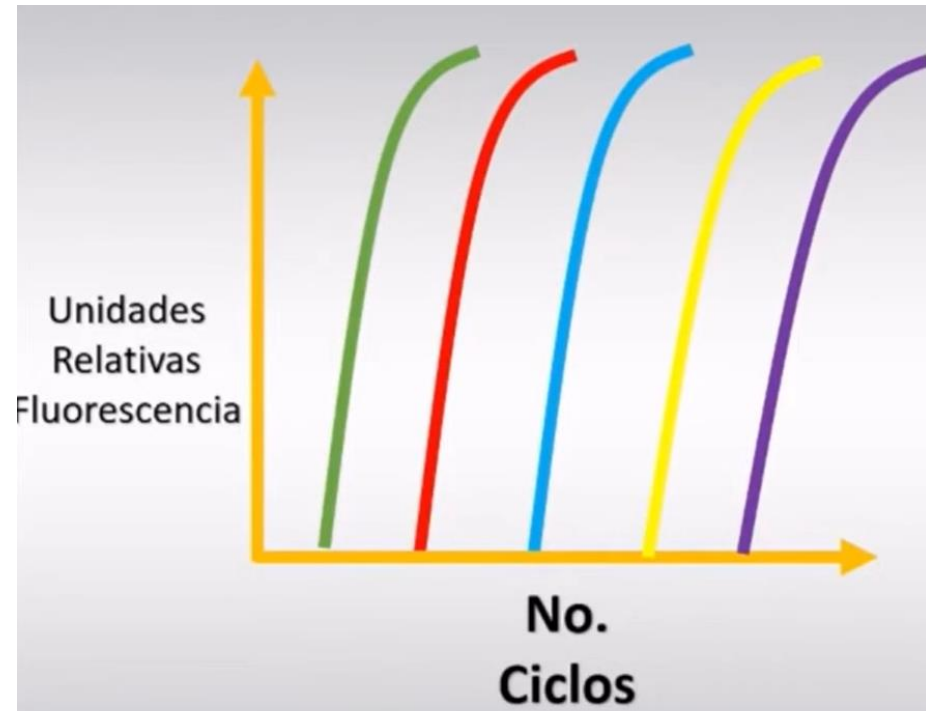




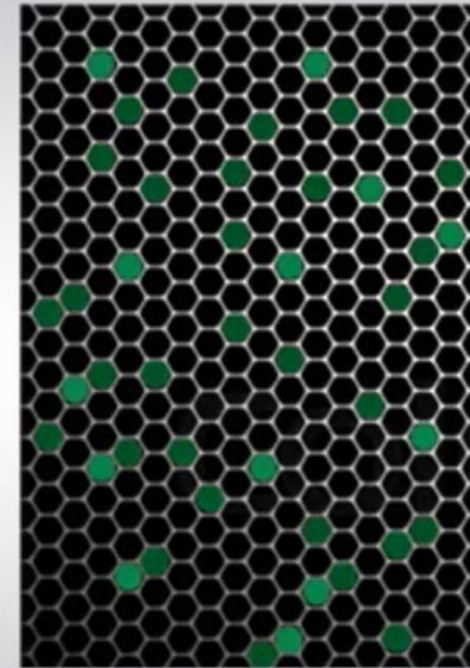
PCR DIGITAL

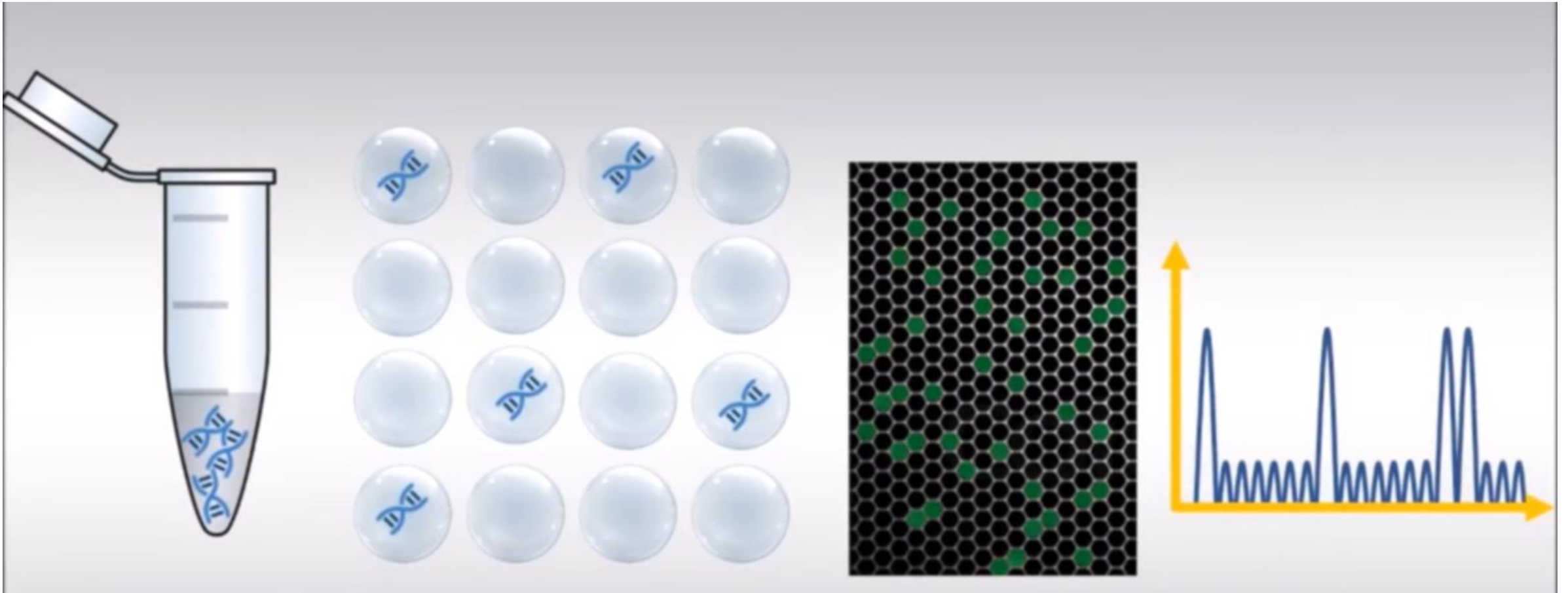
PCR EN TIEMPO REAL



Quantificación
relativa

PCR DIGITAL





1. Preparación de la muestra
(molde, primers,
sonda, dNPT, Taq)

2. Distribución-
Partición

3. Amplificación por
PCRPartición

4. Análisis de los
resultados

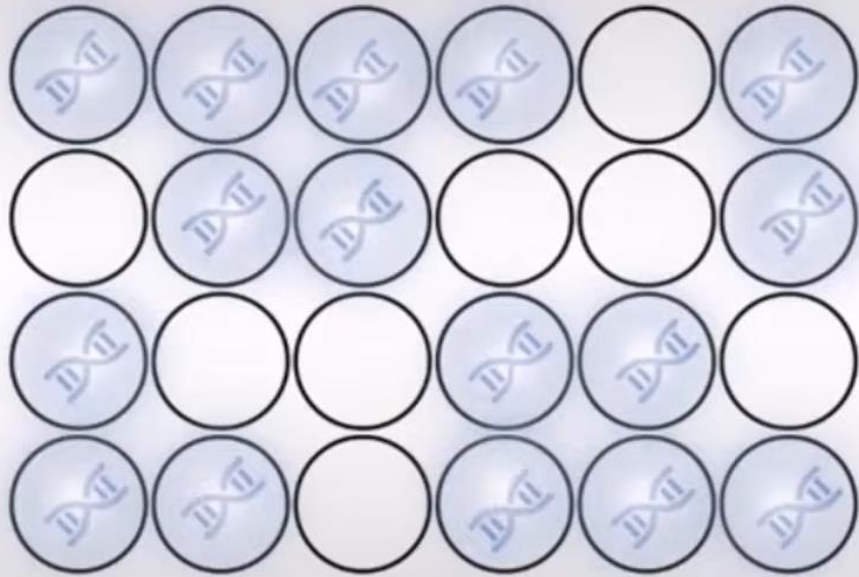
Ejemplo Variante alélica en muy baja frecuencia



Variante 1
Mayor proporción

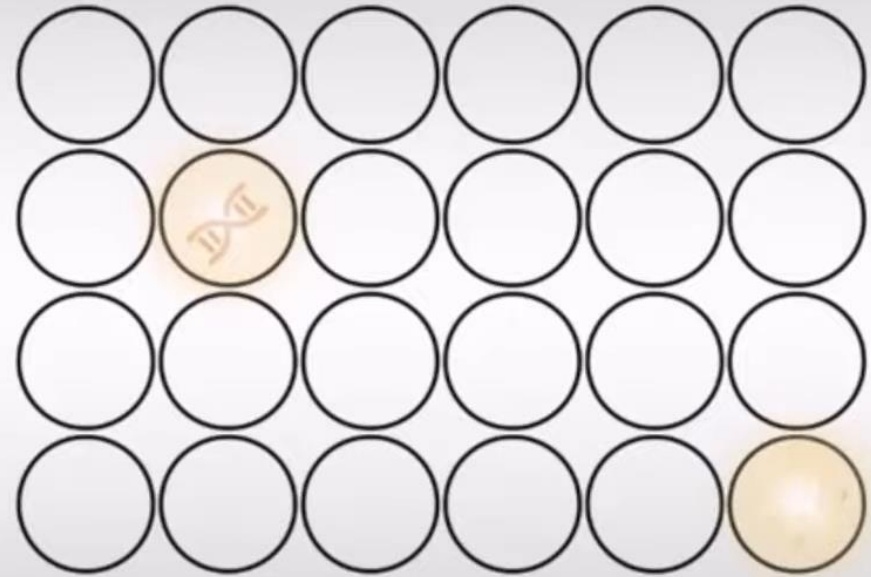
Variante 2
Menor proporción

Secuencia 1



16/24

Secuencia 2



2/24

$$\mathbf{M} = -\ln\left(1 - \left(\frac{\mathbf{P}}{\mathbf{R}}\right)\right)$$

M = Número promedio de moléculas *target* por partición

P = Número de particiones con el producto amplificado

Secuencia 1



$$M = -\ln\left(1 - \left(\frac{16}{24}\right)\right)$$

1.0986 moléculas por partición

Secuencia 2



$$M = -\ln\left(1 - \left(\frac{2}{24}\right)\right)$$


0.087 moléculas por partición

Si la reaccion la hicimos en un determinado volumen

EN ▾


Secuencia 1

$$\frac{400 \mu\text{L}}{24 \text{ particiones}}$$

 **≈ 18 moléculas por μL de muestra**

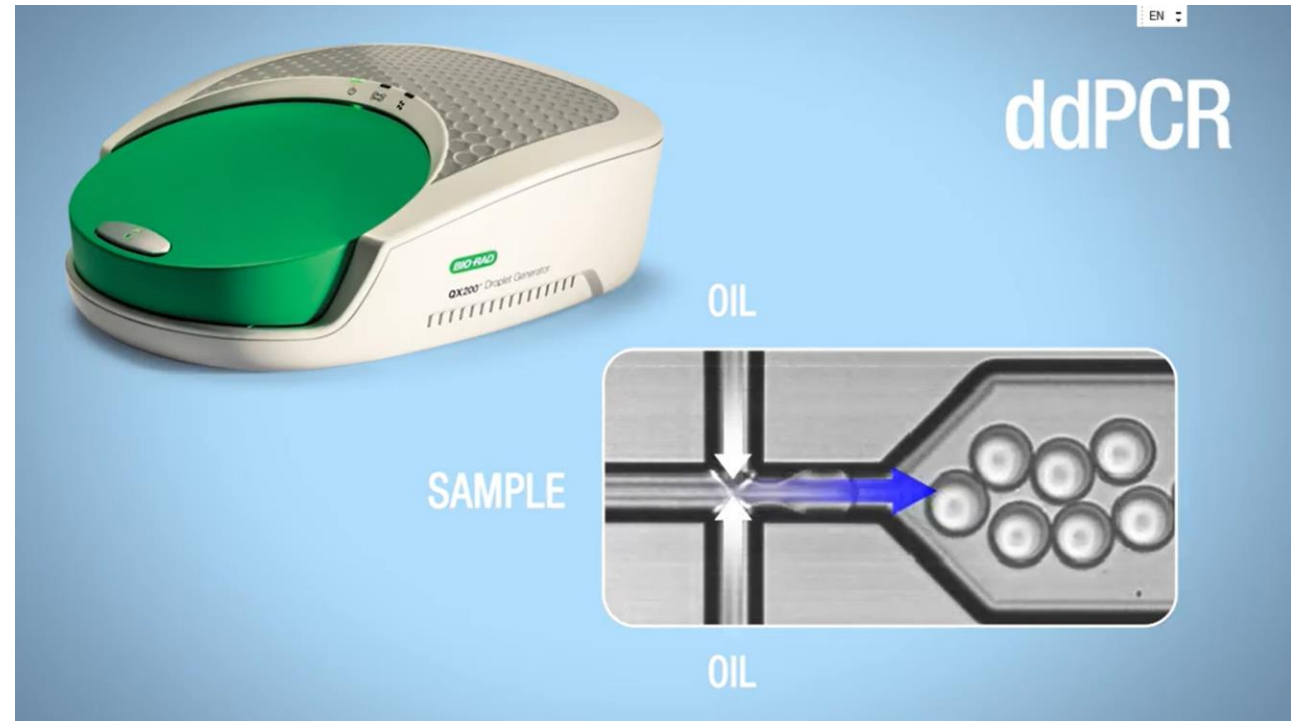
1.0986 moléculas por partición

Secuencia 2

 **≈ 1.5 moléculas por μL de muestra**

0.087 moléculas por partición

<https://www.youtube.com/watch?v=IAVVoyZxITU>



Droplet Digital PCR