Universidad del País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea

sgiker Ikerkuntzarako Zerbitzu Orokorrak
Servicios Generales de Investigación
Secuenciación y Genotipado
Sekuentziaio eta Genotipaziot

sgiker Ikerkuntzarako Zerbitzu Orokorrak
Servicios Generales de Investigación

Genomics facilities / Sequencing and Genotyping Unit
Faculty of Science and Technology, University of the Basque Country (Bilbao) - SPAIN

(Contact: irati.miguel@ehu.es; fernando.rendo@ehu.es)

Tecnología SNaPshot

GENOTIPADO DE 1-20 SNPs por *Single Base Extensión* (SBE)

PROTOCOLO

Reacción de PCR (multiplex)

↓ Purificación ExoSAP-IT

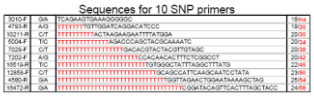
Reacción SNapShot

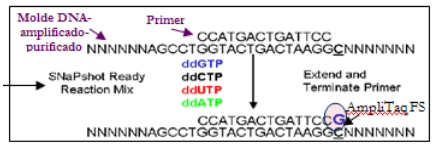
↓ Purificación SAP

Detección de fluorescencia por electroforesis capilar

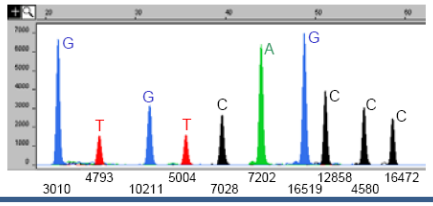
Multiplexing is Achieved Through the Use of "Tailed" SNP primers

Sequences for 10 SNP primers





Result of 10 plex Primer Extension Assay



Ventajas:

- Permite un genotipado individual de las muestras→ genética forense, paternidades, diagnóstico,…
- También sirve para test de metilación

Desventajas:

- **Puesta a punto** de técnica: PCR + combinación de sondas (multiplex)
- Genotipado "semi-automático"
- Necesidad de estandarización (electroforesis)
- Protocolo relativamente largo

Recomendaciones para diseño de cebador:

- Diseñado para que termine justo en el 5´ del SNP (justo antes de la base a determinar).
- Tm > 50ºC (reacción más eficiente).
- Puede diseñarse tanto en la cadena forward (directa) como en la reverse (reversa).
- Chequear la secuencia para evitar la formación de dímeros, hairpins, etc…
- Longitud 15-30 nucleótidos (para multiplexear añadir poliT, diferenciar en más de 4bps)
- Purificados mediante HPLC (sobre todo aquellos > 30 nt).