

REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

La reacción en cadena de la polimerasa (**PCR**, de su acrónimo en inglés *Polymerase Chain Reaction*) es una metodología muy valiosa. La **PCR** permite descubrir la presencia del virus humano de inmunodeficiencia aun antes de que se haya desarrollado una respuesta inmune y, en consecuencia, el organismo haya fabricado anticuerpos contra el virus.

Otro ejemplo de la utilidad de la Reacción en cadena de polimerasa: la **PCR** hace posible hallar tan solo 10 bacilos de [Mycobacterium tuberculosis](#) por cada 10⁶ células humanas.

Además, la **PCR** es un instrumento con enormes posibilidades para la detección temprana de tumores. Así por ejemplo, la localización de mutaciones en genes involucrados en el crecimiento de células humanas (vg los genes *ras* que codifican las [proteínas Ras](#)) se pueden identificar mediante la **PCR**, mucho antes de que estas mutaciones tengan su traducción en el crecimiento descontrolado de dichas células (tumor). La **PCR** permite detectar un número exiguo de células cancerosas en un tejido, siendo pues muy útil para programar los tratamientos antineoplásicos y su duración.

Así mismo, la **PCR** es muy valiosa para localizar las leucemias cuya causa es una reorganización cromosómica.,

Por otra parte, la **PCR** ha tenido una función trascendente en la medicina de los trasplantes de órganos. La conformación del ADN individual es la huella dactilar genética de un individuo. La variabilidad de los *loci* genéticos determina el tipo de [HLA](#) de cada persona (**HLA**, de *Human Leucocyte Antigen*). [Los antígenos HLA constituyen el Complejo Mayor de Histocompatibilidad]. La compatibilidad de los trasplantes de órganos depende en gran medida de la semejanza de los **HLA** de donante y receptor. La **PCR** permite establecer el grado de semejanza de los **HLA** antes de planificar un trasplante. Los antígenos **HLA** fueron descubiertos por [Jean Dausset](#), quien fue [galardonado en el año 1980 con el Premio Nobel de Fisiología y Medicina](#) por este descubrimiento *ex aequo* [Baruj Benacerraf](#) y [George D. Snell](#).

REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

La **PCR** se utiliza con profusión en medicina legal y forense, ya que permite estudiar el ADN a partir muestras exiguas.

La **PCR** es un método para amplificar secuencias concretas de ADN. La metodología fue desarrollada en el año 1984 por [Kary B. Mullis](#), quien fue honrado con el [Premio Nobel de Química en el año 1993](#) *ex aequo* [Michael Smith](#).

Consideremos un fragmento de doble hebra de ADN rodeado de ADN no identificado. Si se conocen las secuencias colindantes al ADN que se quiere amplificar, el método de *Kary Mullis* puede funcionar si se dispone de:

- a) Un par de cebadores que hibridan con la secuencia de ADN que se quiere amplificar.
- b) Los cuatro desoxi-nucleótidos trifosfato (d-NTPs).
- c) Una enzima polimerasa termoestable.

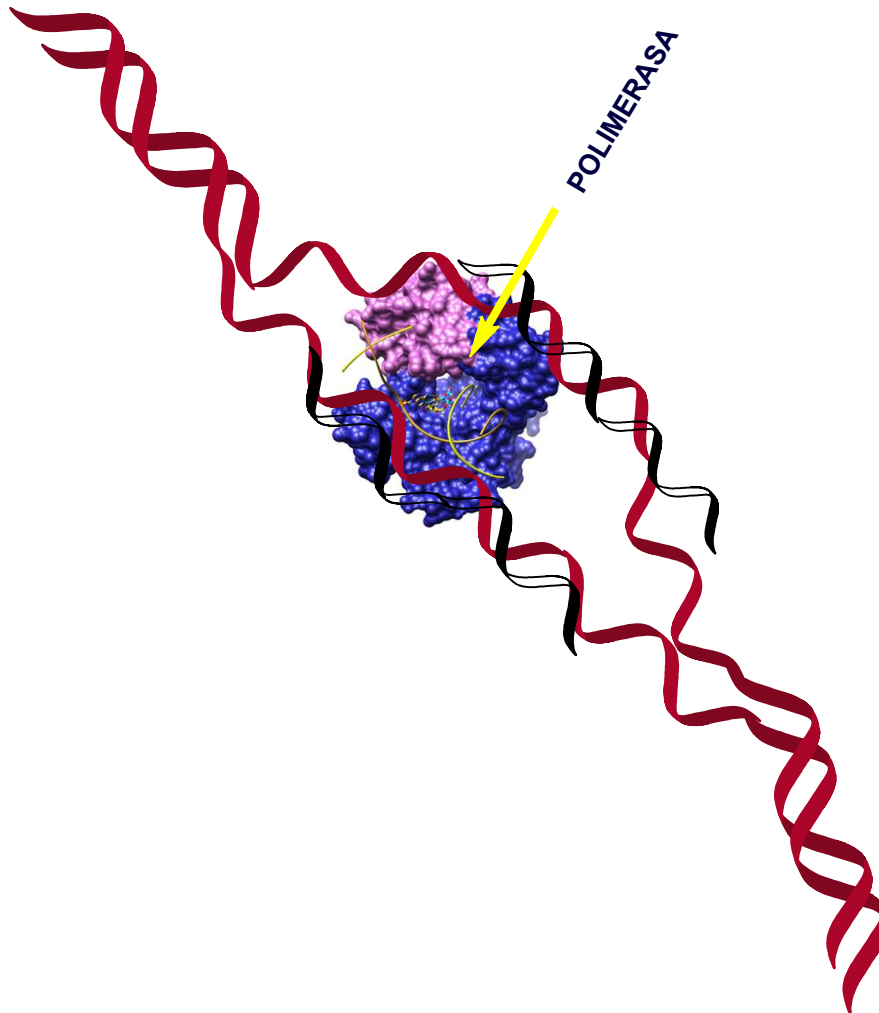
La **PCR** funciona en tres fases:

- 1) Separación de la doble hebra: las dos hebras de la molécula de ADN se desenroscan (Δ a 95° durante 15 segundos).
- 2) Hibridación de los cebadores (constituidos por cortos fragmentos de ADN de entre 20 nucleótidos a 30 nucleótidos). Cada cebador se une con el extremo 3' del *ADN colindante* al que se quiere amplificar, cuya hebra se mantiene abierta usando un exceso de cebadores en la mezcla de reacción.
- 3) Síntesis de ADN. La disolución anterior, que se mantenía ligeramente enfriada (a unos 54°) se calienta de nuevo hasta los 72° , temperatura óptima para la actividad de una polimerasa termoestable [obtenida de *Thermus aquaticus*](#) (designada **Taq DNA polimerasa**). La polimerasa es termoestable porque proviene de un organismo (*Thermus aquaticus*) que habita en fuentes termales. La síntesis de cada hebra del ADN que se desea amplificar se lleva a cabo en la dirección $5' \rightarrow 3'$, contraria a la que llevaron a cabo los cebadores, lo cual limita la polimerización del ADN al fragmento deseado.

Estas tres etapas (1,2 y 3) (separación de las hebras, hibridación de los cebadores y síntesis de ADN) constituyen 1 ciclo de amplificación por **PCR**. La reacción se puede repetir muchas veces sin alterar la mezcla, con solo variar la temperatura. Tras

REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

n ciclos se logra una amplificación de la secuencia de 2^n (dicho de otra forma: tras 20 ciclos la secuencia de ADN se amplifica un millón de veces; tras 30 ciclos se amplifica 1.000 millones de veces). Y todo el proceso se lleva a cabo en menos de 1 hora.



La versatilidad de la **PCR** se debe a varios factores:

- No se precisa conocer la secuencia del ADN que se va a hibridar; es suficiente con conocer (y no de modo preciso) las secuencias de los fragmentos colindantes, los que se hibridan con el cebador).
- La región diana puede ser mayor que las regiones colindantes. Se han amplificado regiones de ADN de hasta 10.000 pares de bases.
- No es preciso que los cebadores se ajusten perfectamente a las regiones colindantes del ADN que se va a hibridar.

REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

- La **PCR** tiene una exquisita especificidad, hibridándose solo la región del ADN que interesa.
- Es una sofisticada herramienta en la búsqueda de genes. Se puede localizar (e hibridar) una región que represente solo una millonésima parte del ADN completo.

Zaragoza, a 5 de septiembre de 2013

Dr. José Manuel López Tricas
Farmacéutico especialista Farmacia Hospitalaria
Farmacia Las Fuentes
Florentino Ballesteros, 11-13
50002 Zaragoza
