

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) es una técnica fundamental en biología molecular que amplifica regiones específicas de ADN. Utiliza una enzima termoestable, la **ADN polimerasa**, para replicar segmentos de ADN in vitro. La PCR consta de tres etapas: **desnaturalización**, donde el ADN se calienta para separar las hebras; **hibridación**, donde los cebadores específicos se unen a las secuencias objetivo; y **elongación**, donde la ADN polimerasa sintetiza nuevas cadenas de ADN complementarias.

La PCR tiene una amplia gama de aplicaciones en **biología molecular** y en la **investigación biomédica**, como la amplificación de genes para su secuenciación, la detección de enfermedades genéticas e infecciosas, la identificación de patógenos y la realización de análisis forenses. Su importancia radica en su sensibilidad, especificidad y capacidad para amplificar pequeñas cantidades de ADN, lo que la convierte en una herramienta esencial en la investigación científica y el diagnóstico médico.

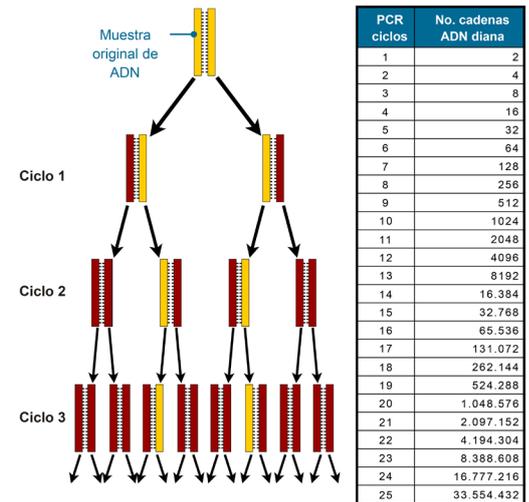
Etapas en la PCR

- 1 Separar cadenas**
Separar las cadenas del ADN objetivo calentando la muestra a 98°C durante 5 minutos
 - 2 Añadir mezcla de reacción**
Añadir **cebadores** (cadenas cortas de nucleótidos que proporcionan secuencias de inicio para la replicación del ADN), **nucleótidos** (A, T, G y C) y la enzima **ADN polimerasa**.
 - 3 Incubar**
Enfriar a 60°C e incubar unos minutos. En este tiempo, los cebadores se unen al ADN de cadena sencilla (monocatenario). La ADN polimerasa sintetiza las cadenas complementarias.
- Repetir alrededor de 25 ciclos
Repetir el ciclo de calentamiento y enfriamiento hasta que se produzcan suficientes copias del ADN objetivo.

La amplificación del ADN puede llevarse a cabo utilizando máquinas de PCR, llamadas **termocicladores**.

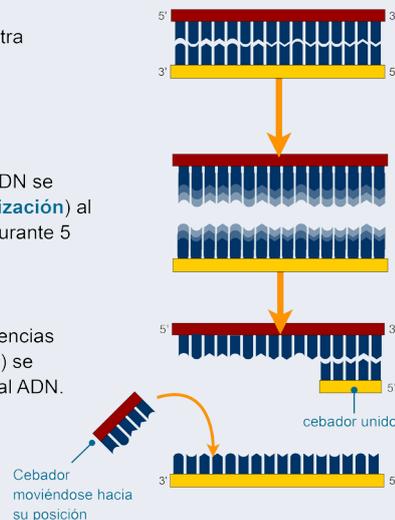


Aunque en la imagen de la derecha solo se muestran tres ciclos de replicación, los subsiguientes ciclos replicarían el ADN con una tasa exponencial, pudiendo obtener millones de copias en unas pocas horas.

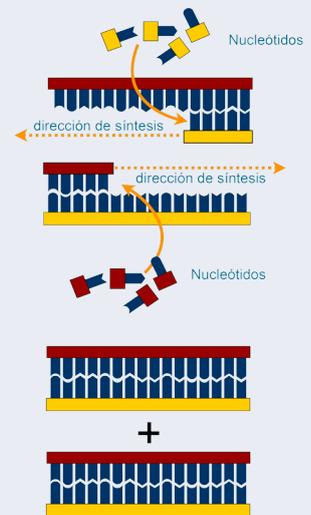


El proceso de la PCR

- Se obtiene una muestra de **ADN diana**.
- Las dos hebras del ADN se separan (**desnaturalización**) al calentar la muestra durante 5 minutos a 98°C.
- Los cebadores (secuencias cortas de nucleótidos) se unen (**anillamiento**) al ADN.



- La muestra se enfría a 60°C. Una enzima **ADN polimerasa** establece se une a los cebadores a cada lado de la cadena de ADN. Esta enzima sintetiza una cadena de ADN complementario usando nucleótidos libres.



- Tras un ciclo, ahora hay dos copias idénticas de la muestra original.

La **ADN polimerasa** desempeña un papel crucial en la síntesis de nuevas cadenas de ADN. Durante la etapa de **elongación**, la ADN polimerasa se une a los cebadores (pequeñas secuencias de ADN complementarias a las regiones de interés) y comienza a agregar nucleótidos libres a la cadena molde de ADN. Utiliza la cadena molde como plantilla para sintetizar una nueva **cadena complementaria**. La ADN polimerasa solo puede agregar nucleótidos **en dirección**

5' a 3', lo que significa que la nueva cadena de ADN se sintetiza en dirección opuesta al movimiento de la horquilla de replicación. La ADN polimerasa sintetiza la nueva cadena de ADN de manera continua en una hebra (la **hebra adelantada**) y de manera discontinua en la otra (la **hebra rezagada**), formando **fragmentos de Okazaki**. Este proceso se repite en ciclos de temperatura para amplificar exponencialmente la cantidad de ADN objetivo.

- ¿Qué es la PCR y por qué es considerada una técnica tan sensible y específica en la detección de ADN?
- ¿Cuáles son las tres etapas fundamentales de la PCR y qué ocurre en cada una de ellas?
- Describe tres aplicaciones en donde el uso de la PCR resulta fundamental.