PCR: Reacción en cadena de polimerasa

PATRICIO VIELMA M. – INTERNO MEDICINA USS

Definición





PCR: "Polimerase Chain Reaction", Reacción en Cadena de la Polimerasa.

Técnica in vitro para síntesis de secuencias especificas de ADN durante varios ciclos repetidos.

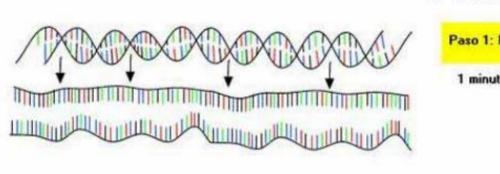
Fundamento

- Se basa en replicación ADN por **DNA polimerasa.**
- Síntesis cadena complementaria en sentido $5' \rightarrow 3'$.
- **Primers** reconocen región especifica.

Repetición ciclo 3 etapas:

- Desnaturalización
- Hibridación
- Extensión

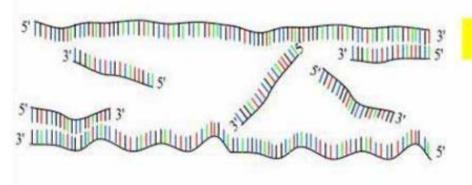
PCR: Polymerase Chain Reaction



30-40 ciclos de 3 pasos:

Paso 1: Desnaturalización

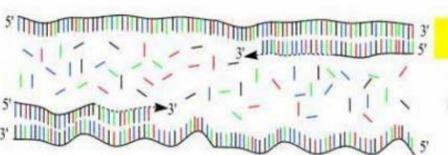
1 minuto a 94°C



Paso 2: Hibridación

45 segundos a 54 °C

ijjCebadores sentido y antisentido!!!



Paso 3: Extensión

2 minutos a 72 °C

solo dNTPs

(Andy Vierstraete 1999)



Figura 2: Termociclador de ADN

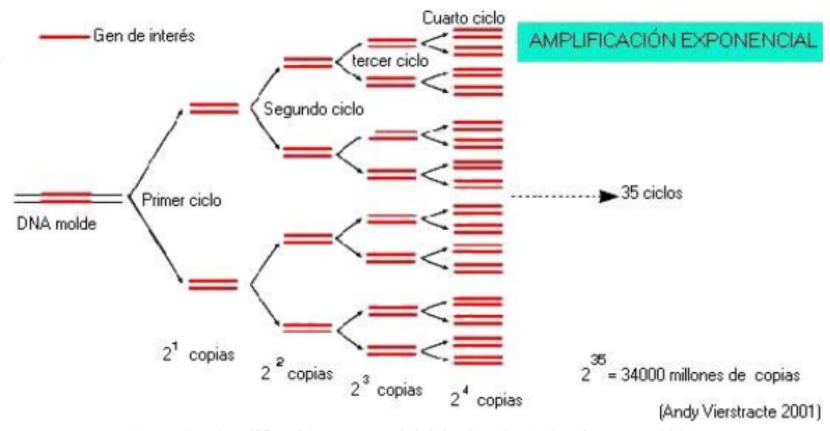


Figura 3a: Amplificación exponencial del PCR (de Andy Vierstracte 2001)



Detección

- Detección por electroforesis (Agarosa/poliacrilmida)
- Visualización:
 - 1. Bromuro de etidio (Luz UV)
 - 2. Tinción de plata
 - 3. Fluoresencia
 - 4. Radioactividad (radiografía)

PCR E. de Chagas



- Se extrae sangre del paciente



- Se extrae ADN total



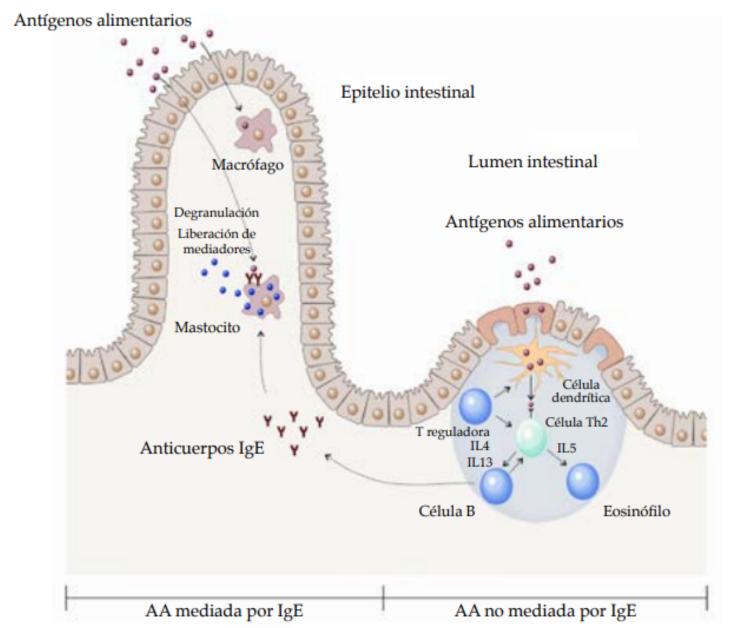
- PCR con iniciadores específicos para amplificar una región del T. cruzi.



- Permite la detección de un parasito en hasta 100 mL de sangre

Fisiopatología alergia alimentaria

Figura 1. Fisiopatología de la alergia alimentaria IgE-mediada e IgE-no mediada



Adaptado de Mowat AM. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol* 2003;3:331-341. AA: alergia alimentaria; IgE: inmunoglobulina E.