



Universidad del Sureste

Escuela de Medicina

Materia: Genética

Químico: Hugo Nájera Mijangos

Resumen: Reacción en cadena polimerasa (PCR) para detección de SARS-COV-2

Alumna: Guadalupe Elizabeth González González

Lugar y fecha

Comitán de Domínguez Chiapas a 17/11/2020.

Reacción en cadena polimerasa (PCR) para detección de SARS-COV-2



En 1983, Kary Mullis, PhD, un científico de Cetus Corporation, concibió la PCR como método para copiar ADN y sintetizar grandes cantidades de un ADN objetivo específico. A lo largo de los siguientes dos años, un equipo de científicos de Cetus que reconoció el impacto que la PCR podía tener en la biología molecular

investigó, perfeccionó y convirtió el proceso teórico en una realidad.

Se presentó por primera vez el equipo en 1985 en la reunión anual de la Sociedad norteamericana de genética humana. Dos avances significativos han permitido que la PCR se convierta en la tecnología que conocemos hoy en día: la polimerasa Taq y el ciclador térmico.

En 1986, los científicos de Cetus aislaron la polimerasa Taq a partir de *Thermus aquaticus*, una bacteria que se halla en las primaveras cálidas. Puesto que Taq podía soportar altas temperaturas, se eliminó la necesidad de intervención humana durante la reacción, esto facilitó y acortó el proceso. Sin una enzima resistente al calor como la polimerasa Taq, la PCR no podría utilizarse a gran escala, ya que el proceso habría sido demasiado complicado.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica muy importante para la biología molecular, esto porque permite obtener in vitro millones de copias de un fragmento de ácido desoxirribonucleico (ADN) a partir de una sola molécula. Esta técnica se basa en la replicación celular en la que actúan varias proteínas para sintetizar dos nuevas hebras de ADN a partir de otra que funciona como molde.

Las PCR son un tipo de pruebas de diagnóstico que han sido de mucha utilidad en diferentes crisis de salud pública relacionadas con enfermedades infecciosas. Al realizar una prueba de diagnóstico mediante PCR, lo que permite detectar es un fragmento del material genético de un patógeno o microorganismo. La PCR, cuyo uso es común y rutinario en los laboratorios de microbiología de hospitales, centros de investigación y universidades, se basa en las características de estabilidad al calor de una enzima polimerasa.

Tras el análisis en un laboratorio de microbiología de una muestra respiratoria de una persona sospechosa de estar infectada, si la prueba detecta ARN del virus, el resultado es positivo. Así, se sabría que ese paciente tiene Covid-19. En cambio, si la técnica de PCR no detecta el material genético del virus, la persona no estaría infectada.

Entre las variantes de la técnica de PCR que se usan para encontrar el SARS-CoV-2 está la principal que es la PCR en tiempo real o cuantitativo (Real-time PCR o qPCR)

Para realizar esta técnica se necesita:

- La muestra de ADN donde se encuentra la secuencia que nos interesa.
- Unos primers o marcadores, es decir, señales que identifiquen la secuencia específica de ADN que se quiere replicar.
- La enzima polimerasa, que sirve para replicar esa secuencia.
- Un tampón que contiene nucleótidos, es decir "los ladrillos" con los que tenemos que construir las copias del ADN buscado.
- Fluoróforos de detección, compuestos que actúan como pequeñas lucecitas de Navidad: en el momento en que los primers identifican las cadenas buscadas en la muestra, se enganchan a dichas cadenas y brillan, permitiendo contar cuántos fragmentos de ADN de interés hay.

Este es uno de los tipos de PCR que se utilizan para saber si una persona se ha infectado de COVID-19. Los primers identifican los genes que codifican dos proteínas específicas del virus. Si la muestra proviene de una persona infectada, la PCR identificará el material genético viral y se enganchará a la secuencia genética buscada. Si se supera un determinado umbral predeterminado de luminosidad emitida por los fluoróforos, podremos decir que la persona está infectada.

La PCR que se usa si el material genético está formado por ARN. El virus SARS-CoV-2 es un retrovirus, esto quiere decir que su material genético está constituido por ARN. En este caso, pues, hay que hacer un paso anterior: convertir la molécula de ARN del virus en ADN mediante otra enzima: la transcriptasa.

Entonces para hacer los tests diagnósticos para COVID-19, se usa una segunda variante de la técnica PCR, llamada RT-qPCR que quiere decir Reacción en Cadena de la Polimerasa cuantitativa con Transcriptasa Inversa.

La molécula de ADN que produce la transcriptasa es complementaria al ARN del virus. Ya que esta obtenida se pueden identificar las secuencias específicas que generan las dos proteínas que delatan la presencia del virus.

La RT-qPCR se puede hacer en dos etapas, primero la RT y después la qPCR, o en una única etapa, en el que se añaden todos los componentes necesarios para las dos reacciones, la transcripción inversa y después la amplificación.

La PCR de alta fidelidad, o High fidelity PCR difiere en que tiene mayor precisión, fidelidad con la que la polimerasa es capaz de replicar la secuencia de ADN de la muestra, pero es más lenta y costosa.

Esta es la versión de la prueba que se ha utilizado en las investigaciones que han obtenido la secuenciación completa del ARN del virus. En este caso es muy importante que las copias del ADN complementario al ARN viral sean muy precisas. De esta forma, los investigadores fueron capaces de obtener una secuenciación completa del virus en las primeras semanas de la pandemia.

Referencias

- *La historia de la PCR.* (s. f.). La evolución y la revolución de la PCR. Recuperado 13 de noviembre de 2020.
- ¿Cómo funcionan y en qué se diferencian las PCR y los test rápidos de coronavirus? (2020, 25 marzo). PCR para covid-19.
- PCR: reacción en cadena de la polimerasa. (s. f.). Alejandra Serrato Díaz, Lluvia Flores Rentería, Jaime Aportela Cortez³ y Edgar Sierra Palacios. Recuperado 13 de noviembre de 2020, de <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/710/pcr.pdf>
- ¿Qué tipos de PCR se utilizan en el diagnóstico y la investigación de la COVID-19? (2020, 24 abril). tipos de PCR y la investigación de la COVID-19