

PCR (Polymerase Chain Reaction)

Η μέθοδος PCR είναι μια απλή και γρήγορη τεχνική βασισμένη στο πρότυπο αντιγραφής του DNA, που επιτρέπει τη δημιουργία απεριόριστων αντιγράφων γενετικού υλικού από ένα μόνο κότταρο.

Η PCR ανακοινώθηκε για πρώτη φορά το 1985 και σήμερα θεωρείται μια από τις σημαντικότερες επιστημονικές ανακαλύψεις της δεκαετίας και έχει αλλάξει, με επαναστατικό τρόπο, τη μελέτη του DNA. Ο εφευρέτης της μεθόδου (Kary Mullis) τιμήθηκε με το βραβείο Νόμπελ Χημείας το 1993. Οι δυνατότητές της είναι τέτοιες, ώστε αξίζει να αναφερθεί το παρακάτω παράδειγμα, που διδάσκεται στους φοιτητές: αν τα συντιθέμενα μόρια DNA μετά από αντίδραση PCR (όγκος μικρότερος από 0,1 ml) τα αδειάσει κανείς σε πσίνα ολυμπιακών διαστάσεων μετά από πλήρη ανάμειξη, η ανάλυση 0,5 ml του νερού της πσίνας μπορεί να δώσει την ακριβή διάγνωση!

Αρχή της μεθόδου PCR

Η PCR είναι μια τεχνική 3 βημάτων (αποδιάταξη του DNA, πρόσδεση των εκκινητών, σύνθεση νέου DNA) που αναφέρονται ως κύκλος, τα οποία επαναλαμβάνονται πολλές φορές. Η PCR δίνει τη δυνατότητα αντιγραφής επιλεγμένων αλληλουχιών DNA με τη χρήση του κατάλληλου ζεύγους εκκινητών, που προσδένονται στα δυο άκρα της αλληλουχίας-στόχου. Η σύνθεση των νέων τμημάτων DNA επιτυγχάνεται με τη χρήση της Taq πολυμεράσης, μιας ανασυνδυασμένης θερμοανθεκτικής DNA πολυμεράσης.

Η διαδικασία πραγματοποιείται σε ένα μηχάνημα, με δυνατότητα προγραμματισμού των κύκλων θέρμανσης και μείωσης της θερμοκρασίας, που ονομάζεται θερμικός κυκλοποιητής (PCR thermal cycler).

Εφαρμογές της PCR

Η PCR επιτρέπει την ανίχνευση DNA ή RNA μολυσματικών παραγόντων, π.χ βακτηρίων ή ιών σε κλινικά και περιβαλλοντικά δείγματα εκεί όπου άλλες παραδοσιακές μέθοδοι (καλλιέργεια μικροοργανισμών ή ανίχνευση αντισωμάτων) μας δίνουν ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Η PCR δίνει τη δυνατότητα ανίχνευσης μολυσματικών παραγόντων γρηγορότερα σε σύγκριση με την ανίχνευση αντισωμάτων, δίνοντας τη δυνατότητα γρήγορης θεραπείας.

Οι επιστήμονες εκμεταλλευόμενοι την υψηλή ευαισθησία της τεχνικής είναι σε θέση να ποσοτικοποιήσουν τη συγκέντρωση του ιού σε αίμα ασθενούς (ϊικό φορτίο), διευκολύνοντας τους γιατρούς στην παρακολούθηση της απόκρισης του ασθενούς στη θεραπεία. Η PCR είναι, επίσης, χρήσιμη σε πολλές καινούριες μεθόδους, όπως το DNA Fingerprinting και η διάγνωση γενετικών ανωμαλιών.

Η PCR εφαρμόζεται, πλέον, σε χιλιάδες εργαστήρια δίνοντας τη δυνατότητα ανίχνευσης αλληλουχιών DNA ή RNA από μικροποσότητες οποιουδήποτε βιολογικού υλικού με υψηλή ευαισθησία.