

La reazione a catena della polimerasi (PCR)



In che modo gli investigatori della serie televisiva CSI possono risalire all'identità dell'assassino da una microscopica traccia di sangue o di altro liquido biologico? Una domanda come questa ha una risposta ben precisa. Kary Mullis, un brillante studioso, è stato insignito del premio Nobel nel 1993 per aver messo a punto la metodica nota come reazione a catena della polimerasi (PCR), che ha rivoluzionato il mondo della genetica molecolare. Se è nota la sequenza anche di una piccolissima parte di un segmento di DNA, è possibile ottenerne l'amplificazione fino a milioni di volte grazie alla PCR.



Kary Mullis

La PCR richiede la sintesi chimica di due brevi oligonucleotidi, ognuno dei quali è

complementare a una breve sequenza di uno dei due filamenti della doppia elica in cui è presente il segmento di DNA che deve essere amplificato. Gli oligonucleotidi servono per iniziare la sintesi *in vitro* del DNA catalizzata dall'enzima DNA polimerasi e costituiranno le estremità 5' dei due segmenti di DNA complementari che si otterranno alla fine del processo.

L'enorme potere di amplificazione della metodica risiede nella duplicazione, a ogni ciclo, dei frammenti ottenuti dal ciclo precedente. Ogni ciclo di reazione comporta un breve riscaldamento del materiale per ottenere la separazione dei due filamenti del DNA. Il successivo raffreddamento permette l'unione dei due oligonucleotidi, aggiunti in forte eccesso, ai filamenti contenenti il segmento di DNA che interessa. L'incubazione della miscela con la DNA polimerasi e i quattro desossiribonucleosidi trifosfati determina la sintesi delle regioni di DNA a valle degli oligonucleotidi iniziatori (figura a pagina seguente). Un'efficace amplificazione richiede da 20 a 30 cicli replicativi, ognuno della durata di circa 5 minuti. L'automatizzazione del processo consente di effettuare l'amplificazione di un segmento di DNA in poche ore.

La PCR è estremamente sensibile e può rivelare la presenza di una sola molecola di DNA in un intero campione. È dunque così che gli indizi impercettibili di CSI diventano rivelatori e consentono di ottenere un quadro preciso della situazione. Per la sua specificità, sensibilità, riproducibilità e rapidità, la PCR trova attualmente largo impiego in vari campi, dalla diagnosi prenatale di malattie genetiche alla rivelazione di infezioni virali asintomatiche, dalla medicina forense all'industria farmaceutica, dalla chimica ambientale alla biologia molecolare, dalla ricerca agroalimentare alla ricerca di base.

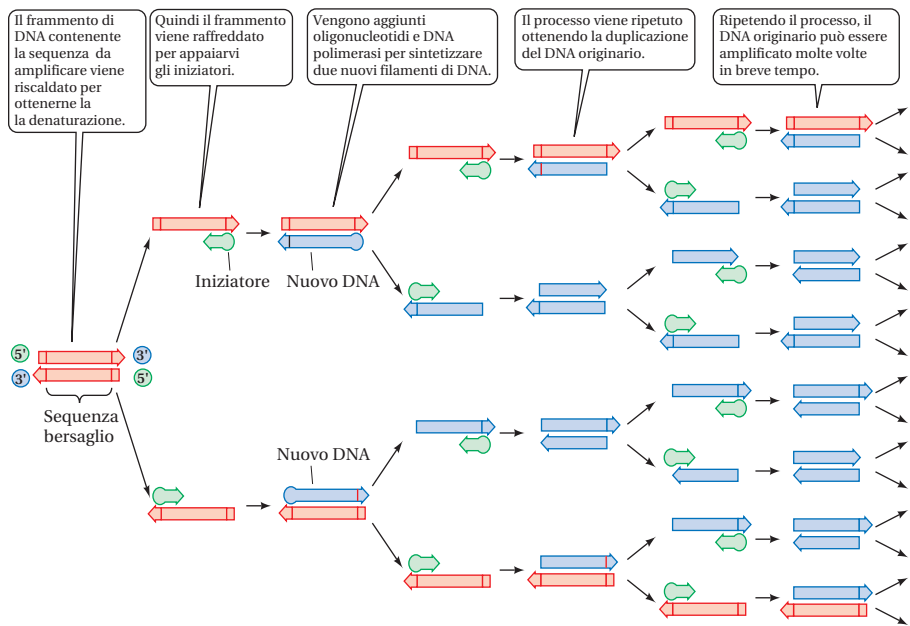


Figura Schema delle fasi della reazione a catena della polimerasi (PCR).