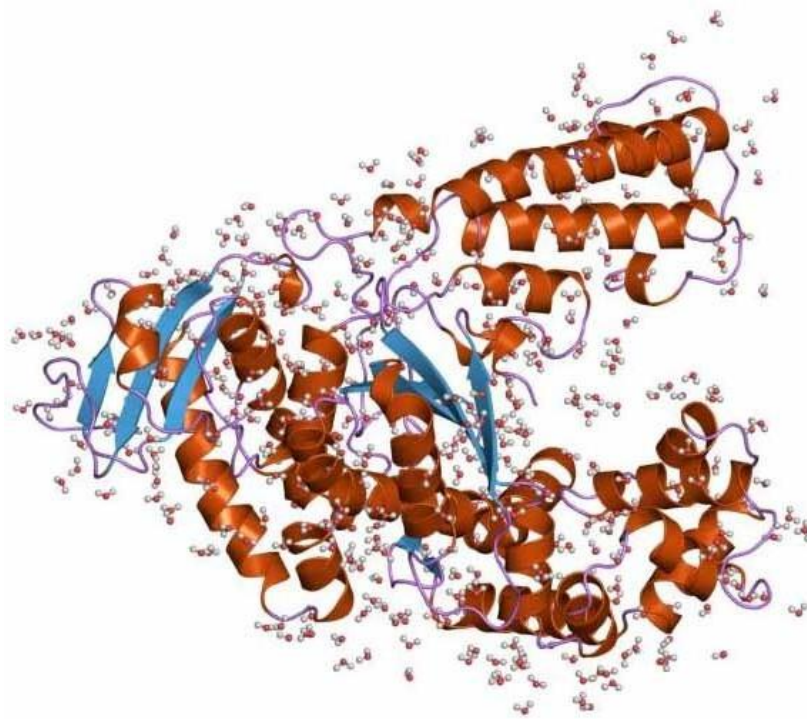


PCR: La reacción en cadena de la polimerasa – Una revolución en la biología molecular

Mi amigo del colegio tiene COVID-19. ¿Yo también lo tengo?



Estructura a escala molecular de la enzima ADN polimerasa de la bacteria termófila *Thermophilus aquaticus* (*Taq*), aislado de Mushroom Pool, Parque Nacional de Yellowstone, Estados Unidos de América. *Taq* La polimerasa, como se la denomina ahora, constituye el núcleo de la reacción en cadena de la polimerasa que ha salvado millones de vidas y ha beneficiado enormemente a la humanidad. Crédito: Jawahar Swaminathan y personal del Instituto Europeo de Bioinformática.

Rachel L. Spietz y Eric S. Boyd

Departamento de Microbiología y Biología Celular, Universidad Estatal de Montana, Bozeman, Montana, EE. UU.

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

Sinopsis

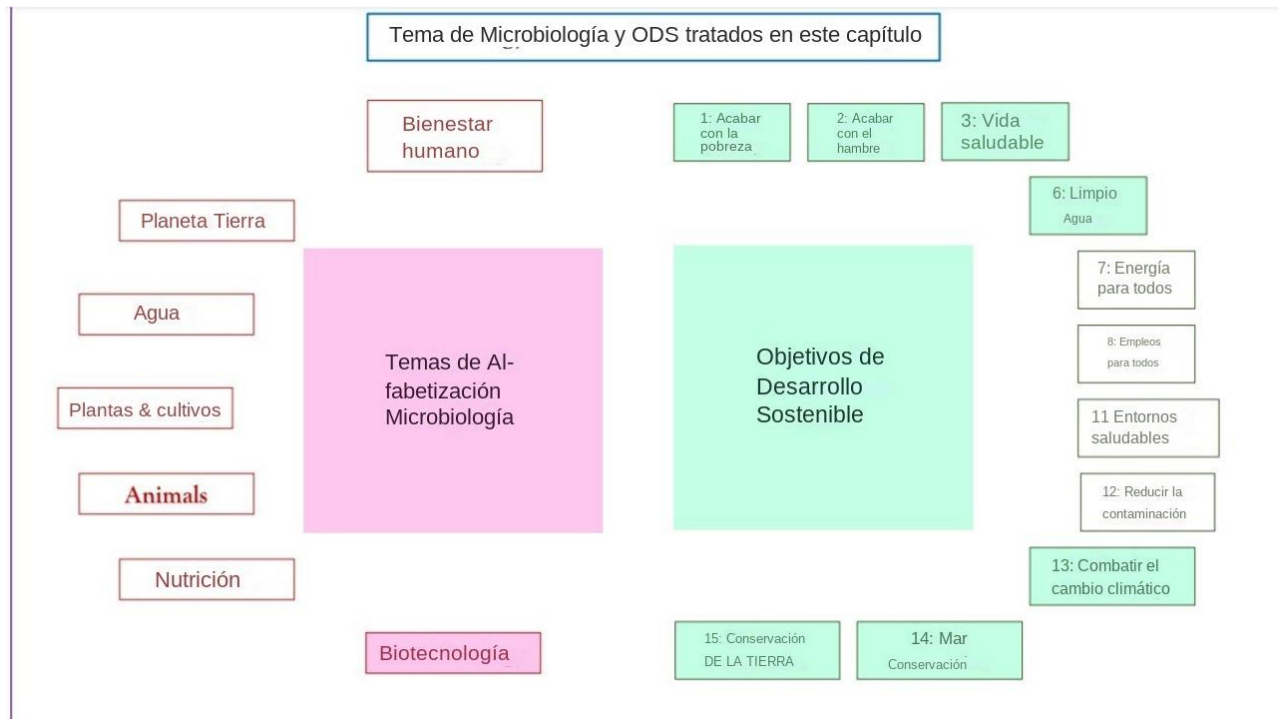
Imagínese que va de vacaciones con su familia y hace un descubrimiento que cambiaría nuestro mundo para siempre. Eso es lo que sucedió cuando los doctores Thomas y Louise Brock visitaron el Parque Nacional de Yellowstone, en Estados Unidos, y observaron las aguas termales y sus coloridos habitantes microbianos durante unas vacaciones en el verano de 1964. Poco sabían los Brock y sus colegas en ese momento, pero su éxito cultivo de *Thermus aquaticus* de Mushroom Pool en Yellowstone estaba a punto de cambiar a la humanidad. No sólo fue *T. aquaticus* uno de los primeros organismos termófilos, o amantes del calor, cultivados en el laboratorio, pero también fue la fuente del ingrediente final necesario para el desarrollo exitoso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que ahora es un método fundamental en el laboratorio científico. Como se explica a continuación, la PCR tiene una variedad de usos que continúan impulsando descubrimientos científicos que cambian la vida, avanzan la ciencia forense y promueven el desarrollo de vacunas, antibióticos y otros medicamentos.



Piscina de hongos, en la Cuenca del Géiser Inferior del parque nacional de Yellowstone, tal como se veía el 23 de junio de 1967. Thomas Brock, fotografiado cerca del borde de la piscina, recogió una muestra de este manantial que fue la fuente de *Thermus aquaticus*, una bacteria que ama el calor y que contiene el ingrediente esencial para la reacción en cadena de la polimerasa, o PCR. Imagen del libro "Un científico en el Parque Nacional de Yellowstone", publicado por el propio Thomas Brock. Es importante destacar que acercarse a las fuentes termales del Parque Nacional de Yellowstone sin un permiso de investigación emitido por el gobierno no solo es extremadamente peligroso, sino que también es ilegal. Todos los visitantes de las fuentes termales de Yellowstone deben permanecer en un sendero marcado o en un paseo marítimo o corren el riesgo de recibir multas significativas, lesiones o incluso la muerte.

La microbiología y el contexto social

La microbiología: ácidos nucleicos, ADN polimerasa y replicación, amplificación de ADN, extremófilos y sus enzimas tolerantes al calor. Cuestiones de sostenibilidad: salud: epidemiología, diagnóstico, profilaxis, terapias, medicina forense, biotecnología, investigación.



La reacción en cadena de la polimerasa: la microbiología

1. ¿Qué es el ADN? Antes de analizar los fundamentos de la PCR y cómo cambió nuestro mundo, tomémonos un momento y revisemos algunos principios biológicos clave que inspiraron y permitieron el desarrollo de la PCR. Todas las células vivas contienen **ADN**, lo que se conoce como el **genoma**. El genoma es básicamente un manual de instrucciones que le dice a una célula qué hacer y cómo hacerlo. Este manual de instrucciones genómico está formado por miles de unidades más pequeñas, llamados **genes**. Cada gen contiene información sobre diferentes rasgos o características, como el color del pelo.

El genoma de un tipo de organismo es diferente del genoma de otro tipo de organismo, y estas diferencias son responsables de las variaciones en el aspecto y el funcionamiento de los organismos. Cada especie de organismo tiene su propia secuencia de ADN genómico única que se puede utilizar para diferenciarlo de otra especie. Incluso dentro de la misma especie de organismo, la secuencia de ADN puede diferir ligeramente. Por ejemplo, cada uno de nosotros tiene ADN genómico con una secuencia que varía ligeramente de los demás, y esta es la razón por la que cada uno de nosotros tiene un conjunto único de características, incluida nuestra altura y el color de nuestros ojos. Por lo tanto, el ADN genómico es como una huella dactilar: una característica única que define a un organismo.

Los científicos han pensado durante mucho tiempo que los rasgos y características se heredan de los progenitores de un organismo, pero no fue hasta la década de 1950 que se determinó la estructura real del ADN. El ADN es de doble cadena: piense en una escalera, pero que se retuerce en forma de hélice.

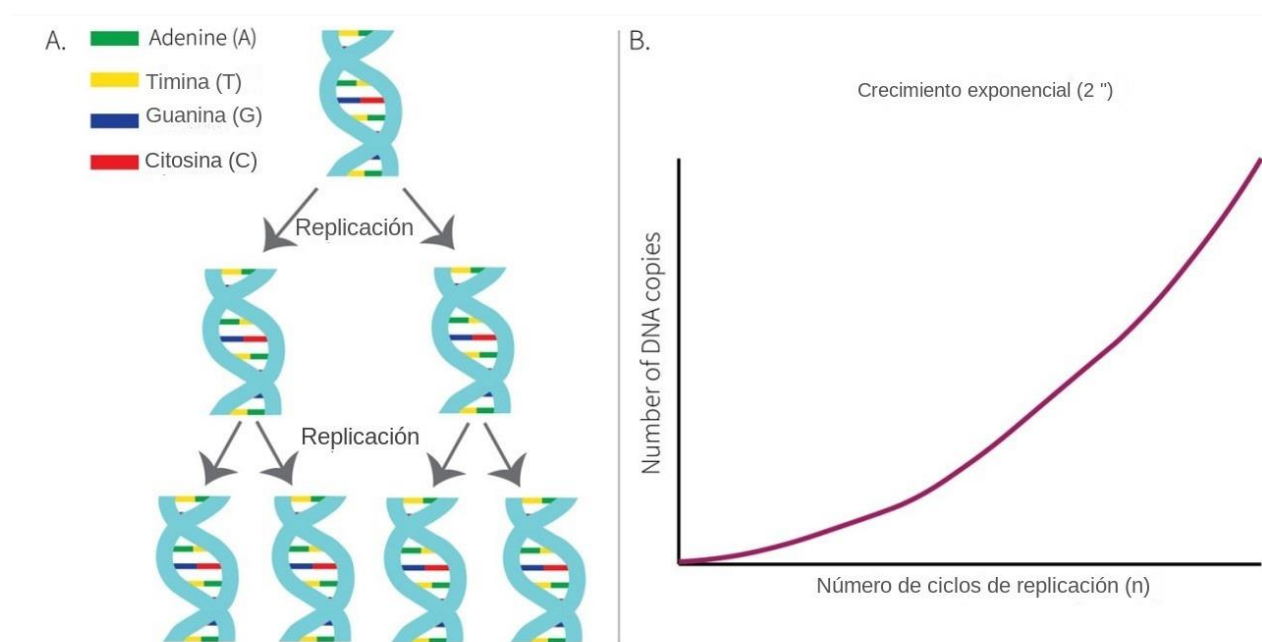
Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

Los soportes laterales de la escalera están formados por las llamadas cadenas principales de fosfato de azúcar, cuyos componentes son constantes en toda la molécula de ADN. Sin embargo, los peldaños de la escalera no están formados por una sola pieza de madera o metal, sino por dos piezas. En el caso del ADN, cada peldaño está formado por dos compuestos, llamados bases, que varían hacia arriba y hacia abajo en la escalera y proporcionan la información que está codificada en los genes.

En el ADN hay cuatro bases de diferentes tamaños: adenina (A), citosina (C), guanina (G) y timina (T). Estas bases tienen dos propiedades clave: la adenina (A) de una hebra forma enlaces de hidrógeno con la timina (T) de la otra hebra, mientras que la citosina (C) de una hebra forma enlaces de hidrógeno con la guanina (G) de la otra hebra. A se pega a T y G se pega a C. Estos emparejamientos son específicos y no son posibles otras combinaciones.

En segundo lugar, aunque las bases individuales tienen tamaños diferentes, los pares de bases A+T y G+C ocupan espacios idénticos, lo que significa que los peldaños de la escalera –A+T o G+C– siempre tienen la misma longitud –los soportes laterales están siempre a la misma distancia uno del otro, como en todas las buenas escaleras. Este patrón de emparejamiento de bases –la complementariedad de las dos hebras de la doble hélice del ADN– representa una estructura similar a una cremallera. Este descubrimiento de los doctores James Watson y Francis Crick fue premiado con el Premio Nobel.

2. ¿Cómo se replica el ADN? La complementariedad de las dos cadenas de ADN se muestra claramente proporciona un mecanismo para la duplicación de la molécula de ADN por el ADN polimerasa porque la separación de las dos hebras permite que se copien exactamente, con una A en la hebra que se va a copiar siempre especificando una T en la nueva hebra que se está sintetizando. Cada hebra sirve como *plantilla* para la síntesis de una nueva cadena hija.



Estructura y replicación del ADN. (A) La doble hélice del ADN en proceso de replicación. Después de una ronda de replicación, una sola copia de ADN se convierte en dos. Después de una segunda ronda de replicación, estas dos copias se convierten en cuatro, y así sucesivamente. Cada ronda de replicación da como resultado una duplicación del número de copias, conocida como crecimiento exponencial y en este

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

caso $2n$, donde el 2 corresponde a las dos hebras de ADN y n es el número de rondas de replicación, representado en (B).

La enzima que copia las cadenas de ADN se llama **ADN polimerasa** y se encuentra en todas las formas de vida. Desde una perspectiva biológica, esto tiene sentido intuitivo porque sabemos que todas las células necesitan tener un genoma, por lo que antes de que una célula se divida, su genoma debe copiarse perfectamente para que cada célula hija reciba una copia durante el proceso de división celular.

Antes de que el ADN polimerasa se adhiera al ADN y lo copie en una célula, las hebras de ADN deben separarse o “descomprimirse” mediante enzimas especializadas llamadas helicinas. Una vez que la doble hebra de ADN se separa en sus dos hebras, el ADN polimerasa copia cada hebra para formar un total de cuatro hebras simples de ADN, o dos hebras dobles de ADN. Esto es lo que sucede en la célula antes de que se divida, de modo que cada célula hija recibe un genoma hijo.

3. La necesidad de replicar el ADN en el laboratorio. A pesar de la ventaja de utilizar ADN para identificar En el caso de diferentes especies o incluso individuos dentro de la misma especie, este enfoque tiene un problema inherente: la cantidad de ADN en una célula es realmente muy pequeña. Una célula microbiana promedio solo contiene varios femtogramos de ADN y una célula humana solo contiene varios picogramos de ADN. Para tener una perspectiva, un pequeño clip de papel pesa cerca de un gramo. Por lo tanto, necesitaríamos tomar el ADN de aproximadamente un cuatrillón (1.000.000.000.000.000 o 10^{15}) células microbianas o alrededor de un billón (1.000.000.000.000 o 10^{12}) células humanas (aproximadamente todas las células de un cuerpo humano promedio) para generar un gramo de ADN. Si bien los científicos no necesitan necesariamente un gramo de ADN para la mayoría de sus experimentos, sí necesitan mucho más que un femtogramo o un picogramo. Por lo tanto, los científicos necesitan una forma de aumentar (amplificar) la cantidad de ADN de una célula sin cambiar la secuencia del ADN de esa célula: necesitan replicarlo en el laboratorio.

Cuando queremos replicar ADN para obtener grandes cantidades, hacemos lo mismo, pero en el “tubo de ensayo” (es decir, fuera de la célula), y no realizamos una ronda de replicación cada vez sino múltiples rondas: mediante una segunda ronda de copia, dos dobles hebras de ADN se convierten en cuatro dobles hebras, y, tras una tercera ronda de copia, cuatro dobles hebras de ADN se convierten en ocho dobles hebras. Esto se llama función exponencial y representa una duplicación del número de hebras de ADN durante cada ronda de replicación.

4. Separación de cadenas de ADN en el tubo de ensayo. Los científicos también han aprendido que un eficiente La forma de separar las cadenas de ADN es simplemente aumentando la temperatura hasta cerca del punto de ebullición, o ~ 94 °C (201 °F). Este es el método preferido para separar las cadenas de ADN en un tubo de ensayo en el laboratorio, ya que no requiere una enzima helicasa especial. Sin embargo, estas temperaturas son duras para las proteínas y pueden hacer que se desnaturalicen y se vuelvan no funcionales. Por ejemplo, cuando cocinas un huevo de gallina (~ 71 °C, ~ 160 °F), las proteínas y enzimas que forman los componentes líquidos transparentes se desnaturalizan para formar una textura sólida, blanca, opaca y más firme que se puede comer.

Esto también significa que el huevo en sí ya no puede convertirse en un polluelo, ya que esas proteínas y enzimas se desnaturalizan y ya no son funcionales. Algo similar le sucede a una enzima polimerasa de ADN típica cuando se somete a un calentamiento a 94 °C: se desnaturaliza y deja de ser funcional.

Pero esto creó un dilema para los científicos: para amplificar el ADN mediante la realización de múltiples rondas de replicación con el ADN polimerasa, primero necesitaban calentar la mezcla para separar las cadenas. Pero este paso térmico esencial desnaturalizó y desactivó el ADN.

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

Por lo tanto, para cada duplicación del ADN (cada ciclo de replicación), los científicos tenían que agregar más ADN polimerasa, una tarea costosa y que demandaba mucho tiempo. ¿Qué podían hacer los científicos?

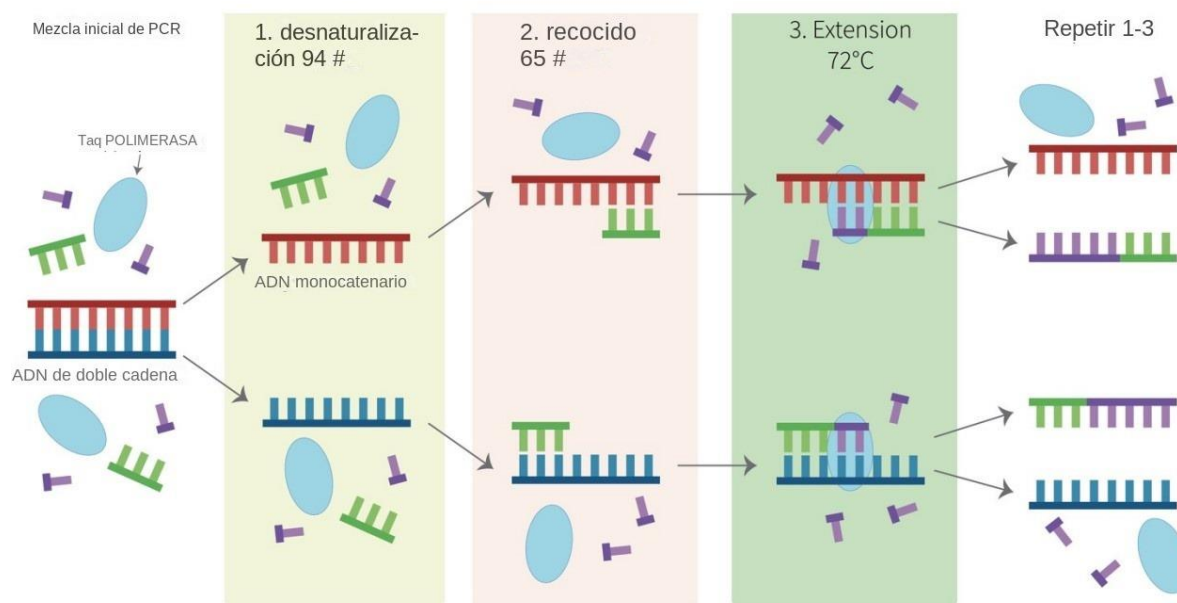
5. ¿Cuál es la conexión entre los microorganismos extremófilos y la amplificación del ADN? A mediados de la década de 1980, varios grupos de científicos trabajaban para desarrollar una forma de amplificar el ADN de un organismo. Casi al mismo tiempo que los científicos desarrollaban métodos para copiar el ADN, el Dr. Brock y sus colegas habían aislado el primer microorganismo **termofílico**, incluido *T. aquaticus*, de las aguas termales en Yellowstone. Estos organismos no solo toleraban altas temperaturas (>90 °C), sino que crecían mejor a esas temperaturas extremas. En ese momento, nadie sospechaba que algún organismo pudiera prosperar a esas temperaturas. Para que estas células crezcan a altas temperaturas, necesitan poder copiar eficazmente su ADN a esas temperaturas. Esto significaba que su ADN polimerasa debía permanecer funcional a altas temperaturas.

Los científicos procedieron a aislar el ADN polimerasa del *T. aquaticus* (llamado Taq polimerasa) y probar su utilidad replicando ADN a través de ciclos repetidos de descompresión y copia de cadenas de ADN. Recuerde que para descomprimir o desnaturar el ADN, debe calentarse a temperaturas mucho más altas que la temperatura corporal de los humanos u otros animales (ver la Figura PCR a continuación). Por lo tanto, para que una enzima ADN polimerasa funcione durante cada paso de la replicación del ADN, necesitaría soportar temperaturas extremadamente altas. Sorprendentemente, La polimerasa Taq permaneció funcional cada vez que el ADN se calentó a 94 °C para separar las cadenas antes de la replicación, lo que significa que no fue necesario agregar nueva polimerasa de ADN después de cada paso de desnaturación, por lo que la reacción se pudo automatizar y se pudieron ejecutar numerosos ciclos (rondas) en secuencia. Es esta enzima polimerasa de ADN la que dio origen a la reacción en cadena de la polimerasa: la PCR.

6. ¿Cómo funciona la PCR? Las polimerasas de ADN no pueden iniciar la síntesis de un ADN complementario en una cadena de ADN molde desnuda: sólo pueden extender un fragmento complementario existente de ADN. La célula resuelve este problema proporcionando un fragmento corto de ADN (o ARN), llamado cebador, en la plantilla. Los científicos descubrieron que al agregar a la mezcla de ADN un cebador sintético corto que pudiera extenderse mediante la polimerasa ADN, se podría apuntar específicamente a una región particular de ADN para la amplificación precisa de un solo gen de interés.

Pronto se inventaron instrumentos especializados que podían calentar y enfriar rápidamente las reacciones, lo que permitió la replicación exponencial de una molécula de ADN de doble cadena en casi 500 millones de copias idénticas en solo 30 ciclos de PCR que, en conjunto, tomaron menos de unas pocas horas. Otros avances biotecnológicos permitieron optimizar la PCR mediante la modificación de la *Taq* enzima y mejores condiciones de reacción, aumentando así la sensibilidad y la eficiencia de la reacción. Esta moderna tecnología de PCR ha marcado el comienzo de una nueva generación de aplicaciones.

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez



PCR. A través de una serie de pasos de calentamiento y enfriamiento y con la adición de polimerasa ADN *Taq* y primers: el ADN se puede replicar exponencialmente mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El primer paso de la PCR es desnaturalizar el ADN bicatenario en ADN mono catenario. Esto permite que secuencias cortas de ADN, llamadas cebadores, se adhieran o se hibriden a 65 °C con el ADN mono catenario en el segundo paso. La polimerasa ADN *Taq* extiende el ADN mono catenario complementario a partir de los cebadores (paso 3). Esto se repite hasta 30 ciclos para generar millones de copias de un único fragmento de ADN.

7. Impactos sociales: ¿Cómo impacta la PCR en nuestra vida diaria? La PCR es una herramienta esencial. En los laboratorios clínicos, farmacéuticos, forenses y de investigación, la PCR se utiliza para crear millones de copias idénticas de un gen o fragmento de ADN. En algunos casos, los médicos e investigadores simplemente quieren determinar si el gen está presente en una muestra o no. Sin embargo, para ello, necesitan una forma sensible de detectar un gen incluso si está presente en cantidades extremadamente bajas. Este enfoque se puede utilizar para identificar un microbio infeccioso en el cuerpo de un paciente enfermo. Este uso de la PCR puede permitir el seguimiento de la propagación de una enfermedad contagiosa emergente o detectar agentes de amenaza biológica o genes de resistencia a los antimicrobianos. En otros casos, los médicos e investigadores utilizan la PCR para crear suficientes copias idénticas de un gen para permitir la determinación de la secuencia de ese gen para identificar un organismo o individuo. Esto es común en el laboratorio de investigación, donde los científicos intentan describir la cantidad de variantes de secuencia de un gen (denominada diversidad) en una muestra. En otros casos, los investigadores utilizan la PCR para generar suficientes copias idénticas de un gen para que pueda usarse de manera efectiva en aplicaciones de biología molecular para modificar lo que un organismo puede hacer. Veamos con más detalle algunos ejemplos clave de estas aplicaciones.

- **Medicina.** Una de las formas más importantes en que la PCR ha impactado a la sociedad humana. Se trata de su uso en la industria farmacéutica. Por ejemplo, se estima que casi el 6% de la población mundial padece diabetes, una enfermedad en la que el cuerpo no produce cantidades adecuadas de la hormona insulina para regular la cantidad de glucosa en el torrente sanguíneo de una persona. Esta enfermedad es especialmente frecuente entre las personas de bajos ingresos y población empobrecida, lo que significa que cualquier tratamiento para esta enfermedad no sólo tendría que estar ampliamente

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

disponible sino también ser de bajo costo.

El tratamiento principal para los pacientes diabéticos es proporcionarles insulina elaborada a partir de una fuente externa a su cuerpo. En el pasado, la insulina se obtenía del páncreas (el órgano que produce la insulina) de vacas o cerdos. Sin embargo, hoy en día, casi 500 millones de personas padecen diabetes, mientras que solo hay alrededor de 1.000 millones de vacas y 700 millones de cerdos en el planeta que podrían servir como fuente de insulina. Simplemente no hay suficientes vacas o cerdos en la Tierra para proporcionar suficiente insulina para proporcionar dosis diarias a las personas diabéticas.

Para superar esta limitación, los científicos utilizaron la PCR y otras herramientas de biología molecular. Para convertir las células microbianas en fábricas de producción de insulina, los genes necesarios para producir insulina fueron copiados por PCR e introducidos en la bacteria. *Escherichia coli* y el hongo *Saccharomyces cerevisiae*. Estos organismos modificados genéticamente (OGM) son fáciles y económicos de cultivar en grandes cantidades. Esto significa que estos OGM pueden usarse para producir grandes cantidades de insulina a un costo relativamente bajo. Tenemos una deuda de gratitud con la PCR, en particular la polimerasa Taq, por hacer posible la generación de insulina sintética para tratar la epidemia mundial de diabetes.

- ***Ecología de patógenos y epidemiología de enfermedades.*** Entre diciembre de 2019 y abril de 2022, casi 500 millones de personas se infectaron con un nuevo coronavirus (SARS-CoV-2), lo que provocó más de 6 millones de muertes y la cifra sigue aumentando. Todos recordamos este hecho como la pandemia de COVID-19. Sin embargo, ¿cómo saben los médicos y los científicos cuántos casos de COVID-19 se han producido en todo el mundo? En otras palabras, ¿de dónde procede esta cifra estimada de infecciones?

El virus SARS-CoV-2 es un virus ARN, lo que significa que su genoma está formado por ARN monocatenario en lugar de ADN. (Nota: la mayoría de los científicos no se refieren a los virus como organismos vivos porque no pueden replicarse por sí solos, por lo que la afirmación anterior de que todos los organismos vivos tienen genomas de ADN sigue siendo válida). La forma más sensible de detectar el SARS-CoV-2 es convertir primero el ARN del virus en ADN a través de un proceso llamado transcripción inversa. Luego, los médicos y científicos aplican la PCR para copiar el material genético del SARS-CoV-2 a niveles lo suficientemente altos como para ser identificado en las muestras.

Si se ha hecho una prueba de COVID basada en PCR, sabrá que estas muestras suelen proceder de la nasofaringe, o la nariz. Esta prueba es tan sensible que puede detectar la presencia de tan solo 100 moléculas de ARN del SARS-CoV-2 por mililitro de muestra. En este caso, la PCR se está utilizando para identificar y ayudar a detener la propagación del virus mortal que causa la COVID-19. Por supuesto, la PCR es clave para identificar nuevas variantes preocupantes de patógenos, mutantes que tienen nuevas propiedades importantes, como una mayor virulencia o transmisibilidad, y fue crucial para monitorear y modelar las sucesivas olas de variantes de la COVID-19.

La PCR se utilizó como herramienta de diagnóstico mucho antes del COVID-19; también se utiliza comúnmente para identificar la presencia de otros patógenos humanos como *Chlamydia trachomatis* (una bacteria que causa la enfermedad de transmisión sexual llamada clamidia), *Streptococcus* (la bacteria que causa la faringitis estreptocócica), el VIH (el virus que causa el síndrome de inmunodeficiencia adquirida o SIDA), *Mycobacterium tuberculosis* (la bacteria que causa la tuberculosis), *Neisseria gonorrhoeae* (La bacteria que causa la enfermedad de transmisión sexual gonorrea) y la influenza (el virus que causa la gripe), entre muchas otras. Una vez detectadas, se pueden administrar rápidamente los tratamientos adecuados para controlar estas infecciones. Nuestra capacidad para detectar e identificar rápidamente las infecciones

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

Los agentes que utilizan la PCR han tenido un enorme impacto en la forma en que los médicos tratan las enfermedades y las agencias de salud pública monitorean y controlan su propagación en nuestras comunidades.

- **Ciencia forense: la huella digital de la PCR.** La PCR también juega un papel importante en la justicia criminal, en particular para los científicos forenses. Los científicos forenses tienen la tarea de recolectar y analizar evidencias de las escenas del crimen, incluida la posible presencia de huellas dactilares en superficies que pueden haber sido tocadas. A menudo, las pruebas que se recolectan no son en sí mismas capaces de usarse para identificar a un criminal o una víctima. Por ejemplo, un cabello dejado en la escena de un crimen por sí solo no puede usarse para identificar a alguien, ya que solo hay una cierta variedad y colores de cabello. Lo mismo sucede con la sangre recolectada en la escena de un crimen. Además, ¡esas muestras de cabello y sangre podrían ser de un tipo de animal completamente diferente! Afortunadamente para los científicos forenses, la raíz de un cabello (donde se adhiere a la piel) y la sangre contienen células, y estas células contienen ADN genómico exclusivo del individuo que las dejó. Sin embargo, los criminales a menudo están ansiosos por no dejar evidencia y, por lo tanto, es probable que las muestras de su cabello y/o sangre sean mínimas.

Para superar esta limitación, los científicos forenses utilizan la PCR para crear millones de copias idénticas del ADN de esas piezas de evidencia. Con millones de copias idénticas de ADN, los científicos forenses pueden obtener la secuencia de ADN de la pieza de evidencia y compararla con las secuencias de ADN obtenidas de los sospechosos para encontrar una coincidencia. Sorprendentemente, el uso de la PCR por parte de los científicos forenses ha ayudado en miles de investigaciones criminales y procesamientos de perpetradores. También se ha utilizado para demostrar que un sospechoso es inocente de un delito. En ambos casos, se ha utilizado para identificar retrospectivamente a los perpetradores/demostrar la inocencia en casos antiguos que se han reabierto (es decir, casos sin resolver).

- **Investigación básica.** La PCR se utiliza de forma rutinaria en la comunidad investigadora y quizás en ningún otro ámbito ha tenido mayor impacto que en la microbiología ambiental. Los microbiólogos ambientales saben desde hace tiempo que los organismos que se pueden cultivar en el laboratorio representan solo una fracción de los organismos que se sabe que existen en la naturaleza. Pero no fue hasta que se aplicó la PCR al ADN obtenido de muestras ambientales que pudieron demostrarlo de manera inequívoca.

En la primera aplicación, los científicos extrajeron ADN de Obsidian Pool, una fuente termal del Parque Nacional de Yellowstone. La pequeña cantidad de ADN que se obtuvo se utilizó en una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para generar suficientes copias de un gen para permitir su secuenciación. Lo que los científicos descubrieron fue un mundo completamente nuevo de microorganismos (identificados por su secuencia genética de ADN única) que antes era desconocido para la ciencia. La enorme magnitud de la nueva biodiversidad es equivalente a salir a la calle y descubrir plantas (filo Plantae), que representan un solo filo de organismos, por primera vez, pero hacerlo casi una docena de veces: se descubrieron casi 20 nuevos filos bacterianos y arqueológicos en esa única muestra de fuente termal.

En las tres décadas transcurridas desde su primer uso en microbiología ambiental, el ADN de miles de muestras de todo el mundo se ha sometido a PCR y secuenciación y, sorprendentemente, los científicos siguen descubriendo nuevos microorganismos. Estos estudios han revolucionado nuestra comprensión de la evolución de la vida en la Tierra y el papel de los microorganismos en los ciclos biogeoquímicos globales que sustentan la salud de las plantas, los animales y los seres humanos. Y no olvidemos que cada uno de estos organismos recién identificados podría albergar el próximo gran descubrimiento, al igual que *T. aquaticus* y la PCR.

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

Relevancia para los Objetivos de Desarrollo Sostenible y los Grandes Desafíos

OBJETIVOS 1 Y 2: Poner fin a la pobreza y el hambre. La población humana está aumentando a un ritmo vertiginoso y nuestra civilización se enfrenta a la abrumadora tarea de alimentar a los 8.000 millones de seres humanos que viven hoy (2022). Una solución propuesta es incorporar organismos genéticamente modificados (OGM) con rasgos mejorados en las prácticas agrícolas comunes. Estos cultivos transgénicos han sido diseñados para ser resistentes a patógenos, como insectos y virus, tolerantes a los herbicidas utilizados para matar las malas hierbas competidoras y para tener mayores rendimientos. Es importante destacar que, en teoría, todos estos rasgos pueden ayudar a reducir el costo de la producción de alimentos y aumentar los rendimientos de los cultivos. El desarrollo de cultivos transgénicos depende en gran medida de herramientas de biología molecular, incluida la PCR para introducir genes específicos que codifican esos rasgos y para detectar y confirmar que esos genes específicos se han insertado correctamente en el genoma de una planta, como la resistencia a herbicidas o patógenos.

Los científicos también han estado trabajando para modificar genéticamente los cultivos alimentarios para que sean más nutritivos. Por ejemplo, el arroz dorado es una variedad de arroz blanco modificada genéticamente que se ha diseñado para producir un precursor de la vitamina A, llamado betacaroteno. En muchas regiones del mundo, incluida el África subsahariana y el sur de Asia, la deficiencia de vitamina A es muy frecuente y puede causar ceguera y un mayor riesgo de mortalidad en los niños. Las fuentes naturales de vitamina A incluyen productos animales, verduras de hoja verde, batatas, zanahorias, tomates y pimientos morrones, que no están fácilmente disponibles en estas regiones asoladas por la pobreza. Por lo tanto, varias décadas de investigación molecular que se ha basado en la PCR se han dedicado al desarrollo del arroz dorado como una alternativa económica para combatir la deficiencia mundial de vitamina A.

OBJETIVO 3: Salud y bienestar. A medida que el clima global continúa cambiando y la población mundial se expande, las enfermedades infecciosas se vuelven cada vez más frecuentes y desenfrenadas. La PCR proporciona un método rápido y específico para detectar e identificar agentes infecciosos, como virus y bacterias. Durante la pandemia de COVID-19, la PCR ha sido fundamental para identificar nuevas variantes y ayudar a los científicos a comprender mejor cómo se transmite el virus de animal a persona, de persona a persona, y cómo las variantes afectan los resultados de la enfermedad. Tener más conocimientos sobre cómo se propagan los virus, o su epidemiología, ayudará a los científicos y a los gobiernos a implementar políticas que puedan ayudar a detener la propagación de las pandemias.

OBJETIVO 6: Agua limpia y saneamiento. A medida que las poblaciones comenzaron a crecer rápidamente alrededor del cambio de siglo, En el siglo XIX, también aumentó la prevalencia de enfermedades mortales como la fiebre tifoidea, el cólera y la fiebre amarilla. Los científicos acabaron relacionando los patógenos que causan estas enfermedades con los suministros de agua potable municipales. Para rastrear tradicionalmente la carga de patógenos en los suministros de agua potable, los técnicos observaban cuántos microorganismos crecían en una placa de Petri. Sin embargo, este proceso tarda entre 24 y 48 horas en completarse, lo que podría provocar que el agua contaminada llegara a los hogares antes de que se detectaran los patógenos.

Además, muchos patógenos no crecen en placas de Petri y pueden pasar desapercibidos. En la historia más reciente, los científicos han desarrollado métodos basados en PCR para detectar e identificar patógenos. Este enfoque es rápido y puede proporcionar una sensibilidad mucho mayor que las técnicas basadas en cultivos en tan solo un par de horas, lo que ha ayudado a reducir la frecuencia de transmisión de enfermedades transmitidas por el agua. Como ejemplo notable, los científicos ahora están utilizando métodos basados en PCR para detectar y rastrear la prevalencia de patógenos que causan COVID19 y polio en aguas residuales municipales. Estos esfuerzos están permitiendo a los científicos rastrear, casi en tiempo real, las cargas de patógenos en las ciudades.

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

OBJETIVO 13: Acción por el clima. Los gases de efecto invernadero, incluido el dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄) y óxido nitroso (N₂O), atrapan el calor en nuestra atmósfera, lo que provoca el aumento de las temperaturas en la Tierra. Los microorganismos participan en el ciclo de estos gases de efecto invernadero a través de varios procesos específicos mediados por diferentes enzimas. Mediante el uso de la PCR, los científicos pueden cuantificar y determinar la prevalencia y la actividad de los genes involucrados en el consumo y la producción microbiana de gases de efecto invernadero. A través de esta participación microbiana en el ciclo de los gases de efecto invernadero se puede vincular a diferentes factores ambientales, como la humedad, la luz solar, la temperatura y la carga de nutrientes. Además, se pueden identificar organismos o genes correlacionados con procesos clave para una investigación específica. Con una mejor comprensión de los factores que controlan el ciclo microbiano de los gases de efecto invernadero, los científicos pueden predecir mejor las tasas de estos procesos y pueden hacer recomendaciones para maximizar el consumo y minimizar la producción de gases de efecto invernadero para reducir las emisiones generales, lo que ayuda a mitigar los impactos climáticos en los ecosistemas.

OBJETIVO 14: La vida bajo el agua. Los ecosistemas marinos están sufriendo cambios rápidos a medida que el clima de la Tierra cambia a escala global. La pérdida de biodiversidad es una preocupación importante, ya que los hábitats de los organismos marinos cambian más rápidamente de lo que las especies pueden adaptarse. La PCR es una herramienta esencial para estudiar la biodiversidad a nivel genético mediante la amplificación de genes comunes a todos los organismos en preparación para la secuenciación del ADN. Este proceso proporciona un catálogo de todos los organismos presentes en una muestra recogida del agua de mar, el fondo marino o en organismos individuales como corales, tiburones y ballenas. En el pasado, este enfoque se ha centrado principalmente en catalogar los microorganismos presentes en una muestra. Sin embargo, en los últimos años, los científicos han comenzado a desarrollar métodos de catalogación de macroorganismos que han viajado recientemente a través de un cuerpo de agua, como peces o tiburones, utilizando un método llamado *PCR ambiental* o *PCR electrónica*. Al comparar estas “instantáneas” de la biodiversidad con las recopiladas en el pasado o en diferentes regiones, los científicos pueden comprender mejor qué factores podrían estar provocando eventos de extinción y pérdida de biodiversidad.

OBJETIVO 15: Vida en la tierra. Al igual que los enfoques utilizados para catalogar los microorganismos presentes en muestras marinas (ver **ODS 14**), la PCR se utiliza con frecuencia en muestras terrestres como suelos, permafrost, lagos y arroyos para amplificar marcadores genéticos de la biodiversidad. En un ejemplo clásico, los científicos utilizan la PCR en el ADN recuperado del pelo que se ha recogido en trampas colocadas en los bosques para rastrear la migración y el mestizaje de poblaciones de animales, como ejemplo el oso pardo. Además, la PCR se puede utilizar para identificar y rastrear enfermedades o animales o plantas invasoras que podrían estar diezmando poblaciones de animales o plantas nativas, ayudando a los científicos y epidemiólogos a determinar formas de detener la propagación de enfermedades y organismos dañinos. Los organismos invasores son aquellos que se propagan rápidamente y pueden alterar o destruir rápidamente un ecosistema sano y funcional. Al utilizar eDNA, los científicos pueden rastrear la propagación de especies invasoras, particularmente en sistemas acuáticos.

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

Posibles Implicaciones para las Decisiones

1. Individual

- a. Identificación de enfermedades/patógenos
- b. Resistencia a los antibióticos

2. Políticas nacionales

- a. Detección e identificación de patógenos en sistemas de abastecimiento de agua municipales
- b. Estudios sobre la biodiversidad y los factores que conducen a su pérdida
- c. Considerar políticas para organismos genéticamente modificados en la agricultura
- d. Considerar políticas para el monitoreo de especies invasoras utilizando eDNA

Participación de los alumnos

1. Discusión en clase

a. Utilizando la PCR, es posible analizar rápidamente las aguas residuales para detectar la presencia de patógenos que causan enfermedades, como el COVID-19, la polio o la viruela del mono. ¿Cuáles son algunas de las preocupaciones éticas que plantea el uso de este enfoque biotecnológico para analizar las aguas residuales de viviendas individuales o edificios de apartamentos como medio para rastrear la propagación de enfermedades infecciosas? ¿Es posible que ciertos grupos demográficos puedan ser objeto de discriminación debido a una mayor detección de ciertos patógenos en las aguas residuales?

b. Aparte del agua de mar o el suelo, ¿en qué otros entornos se podría querer utilizar la PCR para identificar organismos que podrían estar presentes?

2. Ejercicios

- a. ¿Puedes calcular el número de copias de un gen que estarían presentes después de 30 rondas de la PCR? Supongamos que se parte de una sola copia de un gen.

La Base de Evidencia, Lecturas Adicionales y Materiales Didácticos

Hoja informativa sobre la reacción en cadena de la [polimerasa](https://www.genome.gov/about-genomics/factsheets/Polymerase-Chain-Reaction-Fact-Sheet). <https://www.genome.gov/about-genomics/factsheets/Polymerase-Chain-Reaction-Fact-Sheet>

COVID-19 y pruebas PCR. <https://my.clevelandclinic.org/health/diagnostics/21462-covid-19->

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

[and-pcr-testing](#)

El protocolo PCR. <https://www.addgene.org/protocols/pcr/>

Pace, N R. Una visión molecular de la diversidad microbiana y la biosfera. 1997. Science. <https://www.science.org/doi/full/10.1126/science.276.5313.734>

Dougherty MM, Larson ER, Renshaw MA, Gantz CA, Egan SP, Erickson DM, David M. Lodge. El ADN ambiental (eDNA) detecta el cangrejo de río oxidado invasor *Orconectes rusticus* en bajas abundancias. 2016. Revista de Ecología Aplicada. <https://besjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1365-2664.12621>

Glosario

Cultivo - El proceso de cultivar un solo organismo de forma aislada, a menudo en un entorno de laboratorio.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) - Una técnica utilizada para replicar o amplificar fragmentos cortos de ADN.

ADN - Ácido desoxirribonucleico, una biomolécula presente en todos los organismos vivos que contiene las instrucciones genéticas, o el plano, de las características de ese organismo.

Genoma - La colección completa de ADN presente en un organismo.

Gen - Una unidad única de ADN que se define por una secuencia de bases o nucleótidos que una célula puede usar como instrucciones para fabricar una proteína específica

ADN polimerasa - Una enzima que crea nuevo ADN añadiendo nucleótidos

Termofílico - Describiendo un organismo amante del calor.

