

Trabalho por: Francisca Neves(46519), Inês Camões(47607), Inês Cardoso(49259), Rute Porém(48640).

O que é o PCR:

O PCR, é um processo de amplificação do DNA, caracterizada por 4 fases de reação: basal, exponencial, linear e fase estacionária. Como já falamos do processo de PCR nas aulas, não o iremos abordar em profundidade. O PCR “end-point”, que nós chamamos de convencional tem a sua fase estacionária em diferentes ciclos, devido às diferentes velocidades de reações químicas e diferentes fatores que as influenciam, traduzindo-se assim, em diferentes resultados. Por este motivo, o PCR convencional não pode ser quantificado. No entanto, há uma relação quantitativa entre a sequencia-alvo no início e no fim de cada ciclo, que segue uma regra exponencial.

PCR em tempo real:

O objetivo do PCR em tempo real é distinguir e quantificar sequencias de nucleótidos específicas numa amostra mesmo que se encontrem em baixas concentrações.

Para poder haver quantificação, são adicionados corantes fluorescentes à mistura de PCR, o que permite quantificar os seus produtos em cada ciclo. Para além do mais, o PCR em tempo real deve ser realizado durante a fase exponencial, quando o sinal de fluorescência é diretamente proporcional à concentração de DNA.

Vantagens:

- Está menos suscetível a contaminações (devido à ausência de processamento pós-PCR dos produtos resultantes);
- É mais fácil de implementar;
- Utiliza menos material genético quando comparado com ensaios convencionais;
- É uma técnica mais sensível, específica e reprodutível;
- O procedimento é mais rápido (passa-se menos tempo no laboratório);
- Grande quantidade de resultados;
- É quantitativo;

Isto levou ao uso amplo desta técnica com diversas aplicações, uma vez que é capaz de apresentar muitos resultados em pouco tempo.

Desvantagens:

- Elevado custo de equipamento
- Elevadas exigências técnicas e científicas (como um controlo rigoroso) são necessárias para o correto manuseamento e manutenção do equipamento.

Falhas nestes controlos e na interpretação dos resultados desta técnica conduziram à ideia errada de que as vacinas podem potenciar o autismo, por exemplo. Contudo, apesar de existirem vários relatórios sobre as falhas deste método, não foram apresentadas alternativas. No entanto existem normas e diretrizes para a sua correta utilização (por exemplo: The MIQE guidelines)

Exemplos de aplicações:

- Estudo da presença de níveis de OGM nos alimentos;
- Detecção de agentes patogénicos;
- Toxicologia forense.

Conclusão:

A técnica de PCR em tempo real tanto pode ser aplicada em utilizações mais tradicionais, como em novas aplicações. Nestas novas aplicações, o PCR convencional comparativamente com o outro, responde de forma pouco eficaz.