



ESTUDO COMPARATIVO DE EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO EM TILÁPIAS E BOVINOS

Autor(es): BASSINI, Liane Ney; ALMEIDA, Diones Bender; COSTA, Marco André Paldês da; OLIVEIRA, Plínio Aguiar de; MOREIRA, Carla Giovani Ávila; MOREIRA, Heden Luiz Marques

Apresentador: Liane Ney Bassini

Orientador: Heden Luiz Marques Moreira

Revisor 1: Cristina Verneti

Revisor 2: Patricia Cristina Gomes

Instituição: Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Resumo:

A obtenção de DNA genômico em boa qualidade e quantidade, para amplificação pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), é fator crucial em pesquisas e diagnósticos laboratoriais. Existem atualmente vários procedimentos de extração de DNA na literatura, contudo, em muitos casos, protocolos disponíveis são utilizados com algumas adaptações, visando contornar problemas específicos de uma espécie em particular. Neste estudo um kit para extração de DNA de sangue em tilápias e bovinos foi avaliado em relação à facilidade de uso e quantidade e qualidade do DNA extraído. Diante disso, o DNA genômico de tilápias e bovinos foi extraído a partir de um protocolo desenvolvido para tecido sanguíneo. Foram utilizadas cinco amostras de sangue de ambas as espécies. Todas as amostras estavam armazenadas em tubos a vácuo com EDTA a -4°C. Para as mesmas foi testado o Kit NucleoSpin® Blood QuickPure, que permite a obtenção de DNA oriundo tanto de sangue, plasma como outros fluidos corporais. Em um tubo eppendorf adicionou-se 200µL de sangue, 25µL de proteinase K e 200µL de solução BQ1, acondicionados em banho-maria por 10 a 15 min. (70°C). 200µL de etanol foi acrescentado e homogeneizado fortemente. A solução foi então colocada em conjuntos (coluna e tubo) para centrifugação por 1 min. a 11.000 x g. A suspensão da coluna foi transferida para outro tubo juntamente com 350µL de solução BQ2. Novamente o material foi centrifugado por 3 min. a 11.000 x g. 50µL de BE a 70°C foi acrescentado e mantido em repouso por aproximadamente 1 min. em temperatura ambiente e logo após centrifugado por 1 min. a 11.000 x g. Desse modo, o DNA encontra-se na solução acumulada no fundo do tubo, pronto para verificação em gel de agarose. Para tilápias os resultados não foram positivos, provavelmente em função de características das células sanguíneas, sabendo que peixes possuem hemácias nucleadas, enquanto em bovinos são anucleadas. Já para bovinos, além do padrão de bandas obtido serem de boa qualidade e livre de impurezas, amplificações por PCR foram bem sucedidas. Esse fato é importante em função de que estruturas celulares e proteínas misturadas com o DNA, podem inibir o processo de amplificação, prejudicando a eletroforese em gel de maior resolução. Somente através destes testes é que protocolos distintos poderão ser melhor usufruídos, solucionando dificuldades não somente na tilapicultura, mas também em outras espécies, como a bovinocultura.