

Avaliação de diferentes métodos de conservação de amostras de tecido animal visando a extração do DNA para análises moleculares

SILVA JUNIOR, Jair Renato Silva da; NONOHAY, Juliana Schmitt de; HEPP, Diego.
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – Campus Porto Alegre – Curso Técnico em Biotecnologia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Odontologia
junior_cmpa@hotmail.com; diego.hepp@poa.ifrs.edu.br

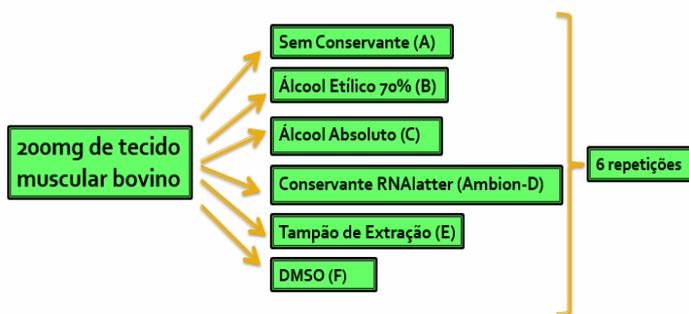
Introdução

As análises moleculares utilizam o DNA proveniente de amostras biológicas para diferentes objetivos, tais como a detecção de microrganismos, o diagnóstico de doenças genéticas, a avaliação de paternidade e a genética forense. O DNA é obtido de tecidos de diferentes fontes através de técnicas de extração de ácidos nucleicos. Após a coleta, a degradação das amostras ao longo do tempo resulta em perdas no rendimento e na pureza do DNA sendo um fator limitante para o sucesso das análises. Desta forma torna-se importante a avaliação de métodos de conservação capazes de impedir a degradação do DNA.

Objetivo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de diferentes conservantes sobre a preservação de amostras de tecidos animais ao longo do tempo, visando a extração do DNA.

Metodologia



O DNA foi extraído no primeiro dia e após 7, 28 e 60 dias

O protocolo de extração, utiliza o detergente brometo de cetil-trimetil amônio (CTAB) na solução de lise celular;

Quantificação do DNA: Técnica de Absorbância em espectrofotômetro com leitura de 260nm;

A pureza foi estabelecida através da razão 260nm/280nm

Resultados

Análises Estatísticas:

RELAÇÃO ENTRE TEMPO X CONCENTRAÇÃO
Correlação de Pearson



Os resultados demonstram a redução acentuada da concentração de DNA ao longo do tempo nas amostras sem conservante (tratamento A).

- Correlação significativa ($P < 0,05$) entre tempo (dias) e a concentração do DNA em:
 - Sem conservante (A) ($r: -0,677$);
 - Álcool 70 (B) ($r: -0,641$);
 - RNAlater (D) ($r: -0,597$);
 - DMSO (F) ($r: -0,736$);
- A correlação não foi significativa ($P > 0,05$) no álcool absoluto (C) ($r: -0,364$) e no tampão de extração (E) ($r: -0,242$)

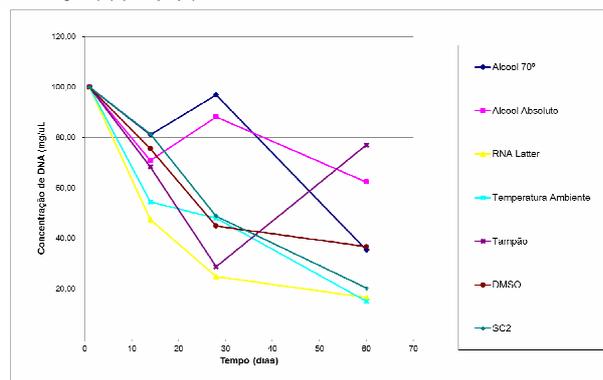


Figura 1: Resultados da degradação do DNA nos tratamentos.

Conclusão

Embora a degradação nas amostras mantidas em RNAlater, em álcool etílico 70% e DMSO tenha sido semelhante às sem conservantes, a utilização de álcool etílico absoluto e de tampão de extração resultou em uma degradação significativamente menor, indicando que este pode preservar as amostras biológicas por um período maior de tempo. Os experimentos realizados permitiram um melhor entendimento da degradação do DNA nas amostras submetidas a diferentes conservantes e da sua utilização visando a realização de análises moleculares.

Referências

- BOOM, R.; SOL, C.J.A.; SALIMANS, M.M.M.; JANSEN, C.L.; WERTHEIM-VAN DILLEN, P.M.E.; VAN DER NOORDAA, J. (1990) Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J. Clin. Microbiol.*, 28,495–503.
- MILLER SA, DYKES DD, POLESKY HF (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl Acid Res.* 16:1215.
- SAMBROOK J, RUSSELL DW (2001) *Molecular cloning. A laboratory manual.* Cold Spring Harbor Press, New York.
- SALEHI, Z. NAJAFI, M. (2014) RNA Preservation and Stabilization. *Biochem. Physiol.* 3: 126.

APOIO: PROBIC IFRS/FAPERGS