

Utilização de diferentes conservantes para a preservação de amostras de tecido animal visando a extração do DNA

Jair Renato Silva da Silva Junior¹, Juliana Schmitt de Nonohay², Diego Hepp^{2*}
*Orientador

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) – Faculdade de Odontologia. Porto Alegre, RS, Brasil.

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS) - Campus Porto Alegre. Porto Alegre, RS, Brasil.

Através do estudo das informações contidas no DNA é possível realizar diferentes análises como o diagnóstico de doenças genéticas e a genética forense. Entretanto, a decomposição das amostras pode provocar a degradação do DNA causando perdas no rendimento e na pureza. Assim, é importante a avaliação de métodos de conservação capazes de impedir a degradação do DNA em amostras biológicas. O objetivo deste trabalho foi analisar a eficiência de diferentes conservantes para a preservação de amostras de tecidos animais ao longo do tempo, visando a extração do DNA. Foram utilizadas amostras de 200 mg de tecido muscular bovino submetidas a seis tratamentos: sem conservante (A), álcool etílico 70% (B), álcool etílico absoluto (C), RNAlatter (D), tampão de extração (E) e DMSO 20% (F). O DNA foi extraído no primeiro dia e após 14, 28 e 60 dias de seis amostras em cada tratamento. O protocolo de extração realizado utiliza o detergente brometo de cetil-trimetil amônio (CTAB), na solução de lise celular. Após a extração a concentração de DNA foi verificada em espectrofotômetro por absorvância de luz no comprimento de onda de 260 nm, e a pureza através da razão entre a absorvância em 260 nm e 280 nm. Os resultados foram avaliados através da Correlação de Pearson, entre o tempo (dias) e a concentração do DNA e a diferença entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis. Os resultados demonstraram a redução acentuada da concentração de DNA ao longo do tempo nas amostras sem conservante (A) justificando a utilização de conservantes. Após 60 dias a redução em relação à concentração de DNA inicial foi de 85% em A, 65% em B, 37% em C, 83% em D, 23% em E, e 63% com F. A concentração do DNA nas amostras apresentou correlação significativa ($P < 0,05$) negativa com o tempo em A ($r: -0,677$), B ($r: -0,641$), D ($r: -0,597$) e F ($r: -0,736$). Entretanto, a correlação não foi significativa ($P > 0,05$) nos tratamentos C ($r: -0,364$) e E ($r: -0,242$). Embora a degradação nas amostras mantidas em RNAlatter, 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 ($H: 26,32$; $P < 0,05$), indicando que estes podem preservar as amostras biológicas por um período maior de tempo. A preservação do DNA nas amostras submetidas aos diferentes conservantes analisados permitirá a sua utilização nas diferentes análises moleculares.

Palavras-chave: Biologia Molecular. Conservação. Extração de DNA.

Trabalho executado com recursos do Edital PROPI N° 006/2015 – PROBIC/PROBITI/IFRS/Fapergs da Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-graduação e Inovação.