

EXTRAÇÃO DE DNA DE TECIDO ANIMAL (APOIO CNPq)

Aluna: Isadora Frederico Gonzales Groba de Azevedo

Escola: Escola Estadual Rui Bloer

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Augusto da Silva

Tutora: Marcia Muccillo

Curso: Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Patologia Ambiental e Experimental

Campus: Indianópolis

A extração do DNA genômico é a etapa inicial para a realização das demais técnicas de Biologia Molecular. Após a descoberta do DNA em 1869 pelo professor Ernst Felix Immanuel Hoppe-Seyler e seu discípulo Johann Friedrich Miescher e a caracterização da sua estrutura tridimensional por Watson e Crick, inúmeros métodos para sua extração foram propostos. Contudo, todos são muito parecidos e diferem apenas em detalhes relativos principalmente ao tipo material biológico utilizado. Neste trabalho, o protocolo de extração por fenol, seguido por separação por clorofórmio e álcool isoamílico foi utilizado na obtenção do gDNA de estruturas encefálicas (Córtex e Estriado). Para isso, inicialmente as amostras foram homogeneizadas em tampão de extração (10 mM de Tris pH 3.0; 0,5% de SDS, 5 mM de EDTA) e então, digeridas com proteínase K (20 mg/mL) por 16 h a 56°C. Em seguida, a separação do DNA dos outros componentes celulares foi realizada pela adição de fenol e clorofórmio, seguido pela sua precipitação com álcool isoamílico. A quantidade e pureza do DNA extraído foi estimada em aparelho de espectrofotometria após sua ressuspensão em 20 µL de água estéril. Os resultados obtidos após a quantificação confirmam que todas as amostras de gDNA extraído possuem quantidade e grau de pureza adequada para sua aplicação em técnicas de biologia molecular, pois todos os valores ficaram dentro dos valores aceitáveis, acima de 1,8, sendo a razão 260/280 indicativa de contaminação com proteínas e a razão 260/230 indicativa de contaminação de fenol.