

Comparação da técnica de extração de DNA de biópsias em parafina, pelo método Fenol/Clorofórmio, com a extração de DNA de material a fresco.

Lucas Weiss Santos^{1*}, Djeison Mikael Campanher¹, Caroline Mayara Kavalco¹, Guilherme Cantini Espindola², Luísa Silva Pacheco², Renato Borges Fagundes³

1. Estudante de Medicina na Universidade Federal de Santa Maria - UFSM *lucasweissantos@hotmail.com

2. Estudante de Farmácia na Universidade Federal de Santa Maria - UFSM

3. Professor Doutor no curso de Medicina da Universidade Federal de Santa Maria - UFSM

Palavras Chave: DNA – PCR – Biópsia

Introdução

Com o fim de obter uma boa quantificação, e por consequência boas taxas de DNA, para realizar a reação em cadeia de polimerase (PCR), é necessário que a extração do DNA se processe com grande eficiência, buscando a redução de contaminantes e, assim, fornecer uma leitura segura para que se tenha os melhores resultados em sua análise(1).

Os dois métodos de extração analisados e comparados são o de extração de DNA em blocos de parafina pelo método de Fenol/Clorofórmio (2,3) e a extração de DNA de material a fresco através do método *Salting out*.

Métodos

Foram analisadas 200 biópsias esofágicas pelo método das *Salting out* e 134 amostras de tecido esofágico pelo método Fenol/Clorofórmio.

Resultados e Discussão

As concentrações obtidas de DNA, após extração por método *Salting out*, foram entre 0,016 até 1,888 ug/uL. A leitura em espectrofotômetro mostrou que 194 amostras apresentaram absorbâncias ideais (>1,0nm). Em relação aos resíduos, apenas 73 estavam em condições ideais para o objetivo do trabalho, porém os resíduos encontrados nas outras 127 amostras não impediram êxito da reação. Na eletroforese de controle, 195 amostras mostraram-se viáveis.

Pelo método de Fenol/Clorofórmio, as concentrações de DNA variaram entre 0,001 até 0,4350 ug/uL. As leituras obtidas, em sua maioria, se mostraram viáveis no teste de quantificação de DNA para posterior análise. Verificou-se que as biópsias com maior quantidade de tecido emblocadas em parafina resultavam em uma maior concentração de DNA final. Quando realizada a eletroforese de controle, 62 das amostras mostraram-se viáveis.

As amostras que se mostraram inviáveis foram aquelas de concentrações de DNA < 0,01 µg/mL.

Tabela 1: Método *Salting out*

Teste	Resultado
Concentrações	0,016 até 1,888ug/uL
Espectrofotômetro	194 (97%) ABS > 1,0nm.
Resíduos	73 (35,5%) ideais 127 (64,5%) com resíduos
Eletroforese	195 (97,5%) amostras viáveis

Tabela 2: Método Fenol/Clorofórmio

Teste	Resultado
Concentrações	0,001 até 0,4350ug/uL
Quantificação	117 (87.31%) viáveis
Resíduos	44 (32%) ideais 90 (68%) com resíduos
Eletroforese	62 (46.9%) amostras viáveis

Figura 1: Métodos de extração de DNA



Conclusões

O DNA extraído de biópsias a fresco demonstrou superioridade qualitativa e quantitativa quando comparado ao material genético extraído de tecidos emblocados em parafina. Tal achado nos permite elencar o material a fresco como mais adequado para a realização da técnica de PCR.

Os métodos de extração de ácidos nucleicos de materiais parafinados possuem grande importância em estudos retrospectivos (4) e o método Fenol/clorofórmio parece propiciar quantidades suficientes de DNA para esse fim.

Referências Bibliográficas

- Simonato, L.E. *et al.* Avaliação de dois métodos de extração de DNA de material parafinado para amplificação em PCR. J Bras Patol Med Lab. 2007;43(2): 121-127.
- Nascimento, E.M. *et al.* Protocolo da extração de DNA de material parafinado para análise de microssatélites em leiomioma; J Bras Patol Med Lab. 2003; 39(3): 253-255.
- Fernandes, J.V. *et al.* Comparação de três protocolos de extração de DNA a partir do tecido fixado em parafina. J Bras Patol Med Lab. 2004; 40 (3) 141-146.
- Scorsato, A.P. *et al.* Fatores que interferem na qualidade do DNA extraído de amostras biológicas armazenadas em blocos de parafina; J Bras Patol Med Lab. 2011; 47 (5) 541-545.