



## SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2016
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	Avaliação da integridade e qualidade do DNA em duas técnicas de extração: Salting Out e Proteinase K com Fenol-Cloroformio
<b>Autor</b>	BETÂNIA DE SOUZA PONCE
<b>Orientador</b>	CLAUDIA MARIA DORNELLES DA SILVA

## **Avaliação da integridade e qualidade do DNA em duas técnicas de extração: *Salting Out* e Proteinase K com Fenol-Clorofórmio.**

Betânia de Souza Ponce e Claudia M. Dornelles da Silva.

Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde - Porto Alegre, Brasil.

**Introdução:** A extração de DNA é um procedimento de suma importância para testes como a reação em cadeia da polimerase (PCR), *Southern blotting* e *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification* (MLPA) e possui duas etapas principais: a lise das células contidas na amostra e a purificação do DNA. O DNA, por sua vez, apesar de sua estabilidade, pode sofrer quebras devido a processos físicos que são realizados durante a extração, por exemplo, durante agitações mecânicas e manuseio da amostra. A fim de se conseguir DNA de boa qualidade, muitos protocolos são alterados e testados com variáveis pontuais para a otimização dos mesmos.

**Objetivos:** Analisar a qualidade e integridade do DNA obtido nas técnicas de extração *Salting out* e Proteinase K com Fenol-Clorofórmio com e sem o uso do agitador *vortex*.

**Metodologia:** A partir do sangue total das amostras coletadas serão realizadas quatro extrações diferentes: Proteinase K com Fenol-Clorofórmio com agitador *vortex*, Proteinase K com Fenol-Clorofórmio com agitador orbital, *Salting out* com agitador *vortex*, *Salting out* com agitador orbital. A quantificação das amostras de DNA extraído será realizada no espectrofotômetro *BioSpectrometer basic (Eppendorf)* para avaliar o rendimento da extração e a pureza das amostras. Já para observar a integridade do DNA genômico, 1  $\mu\text{L}$  de cada amostra de DNA será migrado em um gel de agarose 1%. Posteriormente, será feito um PCR para avaliar a eficácia na amplificação de um fragmento de 3000 pares de base que será visualizado em um gel de agarose 1%.

**Resultados:** Os protocolos já foram adaptados para o uso dos diferentes tipos de agitação. Até o momento já foram coletadas 6 amostras de sangue e se está iniciando as extrações. Espera-se, com esse trabalho, selecionar uma metodologia que permita a realização da extração de DNA com alto peso molecular e grau de pureza adequado para as análises de biologia molecular, mas, principalmente, para aplicação da técnica de MLPA que detecta grandes deleções.

Agências de fomento: FDRH, CNPq, CAPES, FAPERGS e SES/RS.