

**P 3953****Determinação da concentração ideal de GelRed para visualização de DNA em eletroforese em gel de agarose**

Franciele Barbosa Trapp, Rosimeri Weiss, Eriza Cristina Hahn, Sandra Leistner-Segal, Ana Carolina Brusius-Facchin  
Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

A análise de produtos da PCR (Polymerase Chain Reaction) por eletroforese em gel de agarose é uma das técnicas fundamentais nos laboratórios de pesquisa e de diagnóstico molecular. O brometo de etídio (EtBr), um agente intercalante fluorescente, é utilizado para corar ácidos nucleicos e visualizá-los quando em exposição à luz UV. Contudo EtBr é considerado um risco biológico grave devido à sua mutagenicidade, carcinogenicidade e teratogenicidade, dependendo do organismo exposto e circunstâncias de exposição. Atualmente existem corantes intercalantes não mutagênicos (SYBR Gold e SYBR Green), que são relatados, em estudos, como não efetivos, por apresentarem uma mobilidade eletroforética alterada das amostras, mesmo em diferentes concentrações, fazendo com que o tamanho dos fragmentos de DNA não possam ser efetivamente determinados. Outro corante não mutagênico, o GelRed, também pode ser utilizado para a visualização de ácidos nucleicos, por se tratar de um agente intercalante, como os demais corantes, porém com características químicas diferentes. Com isso o objetivo do nosso trabalho foi avaliar a sensibilidade do GelRed, bem como determinar a concentração ideal para uso, afim de inseri-lo na rotina de trabalho do nosso laboratório. Para isso, foram utilizados produtos da PCR, de mesmo tamanho, e que foram feitos com DNA de mesma concentração (20ng) e com concentrações variadas (20 a 100ng). Os produtos foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5%, submetidos a 120 V de potência por aproximadamente 1 hora. Um microlitro de GelRed com concentrações de 25X e 100X foi misturado as amostras antes da eletroforese. Observou-se uma mobilidade eletroforética alterada, dos produtos de PCR que utilizam o mesmo par de primers, com concentrações de DNA diferentes, e com GelRed na concentração de 25X. Os mesmos produtos, quando submetidos à eletroforese com GelRed 100X, não apresentaram diferença na migração, quando comparados com a migração utilizando EtBr. Baseado nesses resultados, podemos concluir que o GelRed 100X mostrou-se mais efetivo para a determinação do tamanho dos produtos da PCR após eletroforese com gel de agarose. Além disso, por necessitar de apenas 1µL de GelRed para corrida, o mesmo se torna custo-efetivo, podendo ser incluído na rotina do nosso laboratório, evitando assim o contato com material carcinogênico. Palavras-chaves: DNA, eletroforese, GelRed.