

XU Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

28^o

Encontro de Iniciação Científica da UENF

20^o

Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

16^a

Jornada de Iniciação Científica da UFF



U III Congresso Fluminense de Pós-Graduação

23^a

Mostra de Pós-Graduação da UENF

8^a

Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

8^a

Mostra de Pós-Graduação da UFF

Comparação entre um método *in-house* e um kit comercial de extração de DNA genômico de sangue periférico

Júlio César Rosa de Souza Junior¹, Karine Terra de Souza¹, Glauber Monteiro Dias¹.

O ácido desoxirribonucleico (DNA) é a matéria-prima para os estudos genéticos, por isso são desenvolvidas técnicas laboratoriais para sua obtenção, com concentração e integridades adequadas. Avaliações de diferentes métodos para obtenção de DNA são importantes para se escolher a opção mais adequada à análise que se deseja realizar. As técnicas utilizadas nas análises moleculares requerem ácidos nucleicos de boa qualidade, ou seja, não fragmentados, com bom grau de pureza (livre de contaminantes, como açúcares, proteínas e fenol) e em concentração adequada. Os kits comerciais buscam oferecer tais características com um tempo de processamento e *input* de amostras menores, no entanto o alto custo é uma limitação. Assim, o objetivo desse trabalho consiste em comparar dois métodos de extração de DNA em relação à concentração e à integridade da amostra. O DNA foi extraído de amostras de sangue periférico de 44 indivíduos envolvidos em um projeto de pesquisa. O sangue foi colocado em tubo de coleta com EDTA. Os métodos de extração avaliados foram o método *salting-out* e o kit "DNeasy Blood & Tissue" (Cat 69504, Qiagen). As concentrações foram medidas por espectrofotometria no NanoDrop 1000. As amostras extraídas pelo Kit "DNeasy Blood & Tissue" apresentaram concentração média de $20,38 \pm 8,03$ ng/ μ l ($260/280 = 1,78 \pm 0,09$ e $260/230 = 3,72 \pm 5,4$), com rendimento de 15 ng DNA/ μ l de sangue. As amostras extraídas pelo método *in-house* (*salting-out*), teve concentração média de $246,9 \pm 222,6$ ng/ μ l ($260/280 = 1,82 \pm 0,050$ e $260/230 = 2,01 \pm 0,43$), com rendimento de 24 ng DNA/ μ l de sangue. Ambos os métodos produziram amostras de DNA com alta pureza com $OD_{260/280} \sim 1,8$. Como esperado, o método *in-house* teve um rendimento maior do que o kit, com um custo menor e tempo maior (~24h). As vantagens do kit comercial são tempo rápido de processamento e quantidade reduzida de input de amostra. O desvio padrão da extração *in-house* ficou alto devido a algumas amostras de sangue que apresentaram coágulos no tubo de coleta, o que afetou o rendimento da extração. Por isso, pode-se concluir que a técnica de *salting out* é simples, eficiente e com baixo custo para ser utilizada na extração de DNA de amostras de sangue humano, já o método realizado através do Kit "DNeasy Blood & Tissue" tem um custo maior sendo realizado em um tempo menor.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: UENF

Eixo temático: Ciências Biológicas

Fomento da bolsa (quando aplicável):

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



XU Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

28^o

Encontro de Iniciação Científica da UENF

20^o

Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

16^a

Jornada de Iniciação Científica da UFF



U III Congresso Fluminense de Pós-Graduação

23^a

Mostra de Pós-Graduação da UENF

8^a

Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

8^a

Mostra de Pós-Graduação da UFF

Comparison between an in-house method and a commercial peripheral blood genomic DNA extraction

Júlio César Rosa de Souza Junior¹, Karine Terra de Souza¹, Glauber Monteiro Dias¹.

Deoxyribonucleic acid (DNA) is the raw material for genetic studies, which is why laboratory techniques are developed to obtain it, with adequate concentration and integrity. Evaluations of different methods for obtaining DNA are important to choose the most appropriate option for the analysis to be performed. The techniques used in molecular analyzes seek to obtain good quality nucleic acids, that is, not fragmented, with a good degree of purity (free of contaminants such as sugars, proteins and phenol) and in adequate concentration. Commercial kits seek to offer such characteristics with a shorter processing time and sample entry, however the high cost is a limitation. Thus, the objective of this work is to compare two methods of DNA conversion in relation to the concentration and integrity of the sample. DNA was extracted from peripheral blood samples from 44 individuals involved in a research project. The blood was placed in a collection tube with EDTA. The evaluation methods evaluated were the *salting-out* method and the "DNeasy Blood & Tissue" kit (Cat 69504, Qiagen). The concentrations were measured by spectrophotometry in the NanoDrop 1000. The samples extracted by the "DNeasy Blood & Tissue" Kit showed a mean concentration of 20.38 ± 8.03 ng/ μ l ($260/280 = 1.78 \pm 0.09$ and $260/230 = 3.72 \pm 5.4$), with a yield of 15 ng DNA/ μ l of blood. The samples extracted by the *in-house* method (*salting-out*) had a mean concentration of 246.9 ± 222.6 ng/ μ l ($260/280 = 1.82 \pm 0.050$ and $260/230 = 2.01 \pm 0.43$), with a yield of 24 ng DNA/ μ l of blood. Both methods produced high purity DNA samples with OD $260/280 \sim 1.8$. As expected, the *in-house* method had a higher yield than the kit, with a lower cost and longer time (~24h). Advantages of the commercial kit are fast processing time and reduced amount of sample input. The standard deviation of the *in-house* transmission was high due to some blood sample showing clots in the collection tube, which affected the transmission throughput. Therefore, it can be concluded that the *salting out* technique is simple, efficient and inexpensive to be used in the inheritance of DNA from a human blood sample, whereas the method performed through the "DNeasy Blood & Tissue" Kit has a cost greater being accomplished in a shorter time.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: UENF

Eixo temático: Ciências Biológicas

Fomento da bolsa (quando aplicável):

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

