

QUANTIFICAÇÃO E QUALIDADE DE EXTRAÇÃO DE DNA DE CAMADA LEUCOCITÁRIA (BUFFY COAT) DE SANGUE HUMANO

PRIMON, Jenifer Kogin (IC - Biomedicina/UNIBRASIL)
NARDIN, Jeanine Marie (Prof^a. Curso Biomedicina/UNIBRASIL)

A qualidade de uma amostra de DNA utilizada para fins de análise molecular garante melhor aproveitamento das técnicas moleculares, proporcionando resultados satisfatórios. Atualmente diversas são as áreas que necessitam da boa qualidade desse material, tais como o estudo e diagnóstico de doenças e do metabolismo de fármacos. A aplicabilidade da análise do DNA justifica a importância e atenção direcionada à qualidade desse material. O objetivo deste estudo foi avaliar a quantidade e qualidade do material proveniente da extração do DNA de camada leucocitária de sangue humano, capacitando o aluno de graduação para execução do procedimento para estudos futuros, frente as condições do local de execução do ensaio e da falta de experiência do aluno. O material será utilizado para a determinação da frequência dos polimorfismos dos alelos *17 e *29 do gene CYP2D6 em mulheres portadoras de câncer de mama. Para tal, foi realizada a coleta de 2 ml de sangue periférico de 338 pacientes com diagnóstico de câncer de mama de uma instituição oncológica de Curitiba/PR, seguido do armazenamento do material sob refrigeração (máximo de 30 dias). Para a extração de material genético, utilizou-se o método de coluna com membrana de sílica, pelo kit QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN[®]). Após a extração, foi realizada a quantificação de DNA e determinada a pureza das amostras por meio da densidade óptica em espectrofotometria pelo aparelho NanoVue (GE Healthcare – Life Sciences[®]). A avaliação da qualidade foi realizada em gel de agarose e pelo ensaio de Reação de Cadeia de Polimerase (PCR); análise estatística descritiva foi utilizada para avaliar performance e qualidade dos ensaios. O resultado em gel de agarose permitiu avaliação da integridade do DNA e o ensaio de PCR permitiu a avaliação da performance do material extraído em reação cotidiana em laboratórios de biologia molecular. Os resultados de quantificação foram analisados em três grupos estratificados de acordo com a concentração de DNA: A) concentrações entre 10 e >50 ng/dl, 111 amostras; B) concentrações entre 50 e 100 ng/□L, 151 amostras; e C) concentrações entre >100 e 300 ng/□L, 76 amostras. O grupo A apresentou média de 33 ng/□L (DP ± 9,9 ng/□L, CV 29%), o grupo B demonstrou média de 70 ng/□L (DP ± 13 ng/□L, CV 19%), e o grupo C apresentou mediana de 134 ng/□L (DP ± 41 ng/□L, CV 28%). A análise de pureza foi realizada utilizando todas as amostras em um único grupo, com média de absorbância igual a 1,79 e mediana de 1,80 (DP ± 0,09, CV 5,0%). A avaliação realizada neste estudo permitiu concluir que as amostras apresentam qualidade satisfatória, podendo ser amplamente utilizadas para futuras análises biomoleculares.

Palavras-chave: DNA; extração; qualidade; quantificação.