

XVI Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite
Juiz de Fora – 13 de Agosto de 2015

Banco de DNA de Bovinos: avaliação de metodologias alternativas para extração de DNA

Caio Toledo Brion¹, Laila Barbosa Santos², Daniele Ribeiro de Lima Reis³,
Marta Fonseca Martins⁴, Marcos Vinicius G.B. da Silva⁴, João Cláudio do
Carmo Panetto⁴, Marco Antonio Machado^{4, 5}

¹Graduando em Biologia – Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora. Bolsista do CNPq. e-mail: caio-brion@yahoo.com.br

²Graduanda em Biologia – Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora. e-mail: lbsantosjf@gmail.com

³Analista, Embrapa Gado de Leite. e-mail: daniele.reis@embrapa.br

⁴Pesquisador, Embrapa Gado de Leite. e-mail: marco.machado@embrapa.br

⁵Orientador

O Banco de DNA de Bovinos da Embrapa Gado de Leite vem crescendo continuamente, desde sua implantação em 2001, e já conta com cerca de 21.400 amostras. Recentemente, com a diminuição dos custos de genotipagem de SNPs (*Simple Nucleotide Polymorphisms*), houve um grande aumento da demanda para a genotipagem de grandes populações de bovinos, principalmente para projetos visando seleção genômica. Desta forma, é necessário encontrar técnicas para a extração de DNA cada vez mais rápidas, econômicas, seguras e de alta qualidade. Este estudo visou comparar duas técnicas de extração, a manual, seguindo o protocolo de Sambrook modificado, que usa fenol e clorofórmio, e a automática, usando o equipamento QIASymphony, da QIAGEN, que usa beads magnéticas. Para este estudo, foram utilizadas 800 amostras de sangue de bovinos da raça Girolando. As células brancas foram separadas por centrifugação, sendo que 400 amostras foram extraídas pelo método manual e 400 pelo automático. Em seguida os DNAs foram quantificados no espectrofotômetro Nanodrop para análise da qualidade e quantidade de DNA. Complementarmente, foram realizados géis de agarose 1,5% para algumas amostras, visando validação da análise de qualidade do DNA. O método manual apresentou um rendimento melhor na quantidade final de DNA extraído, 135 ug em relação a 13 ug do automático. As análises de qualidade usando a razão 260/280 mostraram que no método manual 98% das amostras estão na faixa recomendada contra 85% no automático. Utilizando a razão 230/260 foi observado que 98% das amostras extraídas pelo método manual ficaram dentro da faixa ótima recomendada contra



Gado de Leite

XIV Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite
Juiz de Fora – 28 de Julho de 2014

apenas 64% das amostras extraídas pelo método automático. Nas análises realizadas em gel de agarose, as duas metodologias se mostraram similares, com DNA íntegro, sem rastro que indicasse degradação. Avaliando-se os gastos de insumos, depreciação e mão de obra para cada metodologia, o custo por amostra foi de R\$5,98 no método manual e R\$21,32 no método automático. A vantagem do método automático frente ao manual é o tempo, enquanto o primeiro consegue fazer 240 amostras por semana, o último faz 96. Por fim, concluímos que o método manual ainda se demonstra o mais adequado às demandas das pesquisas realizadas no Laboratório de Genética Molecular da Embrapa Gado de Leite.

Palavras-chave: Genética molecular bovinos, DNA, métodos de extração.