

METODOLOGIA PARA ELETROFORESE DE ÁCIDOS NUCLEÍCOS COM INTERCALAÇÃO FLUORESCENTE PRÉ-CORRIDA SEM DISTORÇÃO NO PADRÃO DE MIGRAÇÃO

Leonardo Furtado de OLIVEIRA^{1*}

¹Embrapa Meio-Norte, Teresina-PI; *leonardofurtado@hotmail.com.

Os avanços ocorridos nos últimos tempos na biologia molecular têm possibilitado identificar e usar a variação genômica no melhoramento genético. A informação genética pode ser acessada através do uso de corantes que se intercalam à molécula de DNA, formando um complexo fluorescente, permitindo sua visualização em géis eletroforéticos. Vários corantes intercalantes têm sido utilizados como corantes de ácidos nucleicos, dentre eles o mais utilizado é o brometo de etídio (EtBr), que é relativamente barato e possui sensibilidade adequada. No entanto, o EtBr possui atividade mutagênica e carcinogênica, além de possuir uma fluorescência intrínseca alta, o que contribui para fluorescência de fundo. Outros corantes comerciais podem substituir o EtBr, porém seus protocolos, em que são adotados banhos dos géis pós-corrída, aumentam consideravelmente os custos dos ensaios em razão do preço elevado do reagente, e restringem a sua utilização na rotina dos laboratórios. Alternativamente, pode-se utilizar uma quantidade inferior do corante intercalante junto com as amostras de DNA, em uma coloração (pré-corrída), barateando os custos. Essa abordagem, muitas vezes gera distorções na migração dos fragmentos, pois o complexo (DNA+intercalante) pode possuir peso molecular diferente, mesmo em fragmentos de DNA de peso molecular igual. O objetivo deste trabalho foi estabelecer uma metodologia alternativa para utilização do Gel Red, que é um corante intercalante de alto peso molecular (10x EtBr), não mutagênico e carcinogênico, junto com as amostras de DNA em colorações (pré-corrída), de maneira a minimizar os problemas de distorções. Com essa finalidade, realizou-se uma série de testes em que se variou a quantidade de DNA, peso molecular dos fragmentos e concentração do corante fluorescente. Os resultados mostraram que as distorções sofrem influência do peso molecular do fragmento de DNA e da diluição do corante. Em diluições sucessivas do corante, verificou-se que a influência da interação heterogênea (DNA+intercalante) não foi suficiente para acarretar distorções. A diluição de 1:1000 do corante intercalante possibilitou a visualização de todos os fragmentos sem a ocorrência de distorções. Além de possibilitar a redução do volume e a redução dos custos com o uso do corante intercalante.

Palavras-chave: concentração, DNA, intercalante, resíduos.

Órgão financiador: Embrapa Meio-Norte.