

Comparação de diferentes protocolos para visualização de DNA separado por eletroforese em gel de agarose utilizando-se os corantes fluorescentes brometo de etídeo e GelRed^R.

Flavia Aline Bressani^{1*}; Poliana Cristine Tizioto²; Marina Ibelli Pereira Rocha³; Adriana Mércia Guaratini Ibelli⁴, Simone Cristina Meo Niciura⁵; Luciana Correia de Almeida Regitano⁶
^{1,2,3,4,5,6}Embrapa Pecuária Sudeste; *flavia@cppse.embrapa.br

O brometo de etídio é um corante fluorescente mutagênico utilizado para a visualização de ácidos nucléicos separados pela técnica analítica de eletroforese em gel. Há um corante alternativo, apresentado comercialmente como GelRed^R (Biotium), que tem se destacado por não ter ação mutagênica. Sua estrutura ainda não é de conhecimento público por estar sob processo de patente, porém sabe-se que sua massa molar é pelo menos 3 vezes maior do que a do primeiro. Comumente, o brometo de etídeo, e mais recentemente o GelRed são utilizados segundo diferentes protocolos, utilizados no gel de agarose antes da polimerização do mesmo, em banho, após a eletroforese ou diretamente na amostra. A aplicação dos corantes na amostra, realizada em diversos laboratórios visando economia, não é recomendada pelo fabricante. O objetivo deste trabalho foi comparar os diferentes protocolos de aplicação dos corantes, uma vez que foi observado que isto pode influenciar o resultado da separação de amostras de DNA por eletroforese em gel. Para isso, produtos de PCR de DNA de aproximadamente 700 pb foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5%, submetidos à 100 V de potência por aproximadamente 1 hora. Observou-se que a migração dos produtos de mesmo tamanho é alterada quando o GelRed é aplicado diretamente na amostra, provavelmente devido ao efeito de retardamento das moléculas de DNA não ser constante. Uma possível explicação é que o número de moléculas de corante intercalado na molécula de DNA pode não ser igual em todas as amostras. Quanto maior o número de moléculas de corante intercaladas, maior o aumento da massa desta, o que pode causar retardamento na migração das moléculas na malha do gel. Esse retardamento altera a previsão do tamanho do fragmento de DNA, estimado por comparação com padrão de tamanho conhecido. Concluímos que o protocolo de aplicação de GelRed^R na amostra não é o mais indicado.

Palavras-chave: corante fluorescente, brometo de etídio, GelRed^R, eletroforese, DNA.

“Apoio: Embrapa, FAPESP, CNPq, Capes”.