

**UNIVERSIDADE DE SANTA CRUZ DO SUL
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA E FARMÁCIA
CURSO DE FARMÁCIA**

João Pedro Bernardy

**OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE UM PRODUTO BIOTECNOLÓGICO
UTILIZADO NA EXTRAÇÃO DE DNA**

Santa Cruz do Sul
2017

João Pedro Bernardy

**OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE UM PRODUTO BIOTECNOLÓGICO
UTILIZADO NA EXTRAÇÃO DE DNA**

Projeto de pesquisa a ser apresentado à disciplina de Trabalho de Curso II, do Curso de Farmácia da Universidade de Santa Cruz do Sul para obtenção do título de Farmacêutico.

Orientador: Lia Gonçalves Possuelo

Coorientador: Luciana de Souza Nunes

Santa Cruz do Sul
2017

RESUMO

O ácido desoxirribonucleico, conhecido como DNA é um composto orgânico cujas moléculas contêm as instruções genéticas que coordenam o desenvolvimento e funcionamento de todos os seres, e que transmitem as características hereditárias de cada ser vivo. A sua principal função é armazenar as informações necessárias para a construção das proteínas a partir de RNAs. Na biotecnologia as informações presentes nestas moléculas são analisadas e a partir desta análise é possível diagnosticar modificações na célula, para isso é necessário extrair o material genético da célula. Inicialmente foi desenvolvido *in house* um produto que consegue extrair o DNA de amostras de sangue e biopsia *in natura*. Em uma nova etapa desta fase de desenvolvimento, inicia a otimização deste, a ideia é melhorar o produto e validar o produto. Os reagentes já desenvolvidos, seguiram protocolos adaptados de Tost e colaboradores (2003) e Miller *et al.* (2000), gerando soluções como: lise celular e lise nuclear (soluções de sais para romper a membrana celular e nuclear, respectivamente), solução de purificação (solução alcoólica com função de precipitar restos celulares) e solução de reidratação (solução para ressuspender o material genético), as quais são soluções primordiais para a extração. Neste trabalho mais soluções foram adicionadas ao kit para conseguir extrair o material genético de diferentes amostras, para isso foram estudados diversos protocolos, pois os tipos de amostras são muito diferentes e a otimização de um protocolo específico para cada amostra foi uma das etapas mais importantes apresentadas neste trabalho, no qual foram apresentados protocolos e soluções para extrair DNA de tecido *in natura*, sangue, biopsia parafinada, bactérias e protozoários. O material genético extraído foi avaliado por espectrofotometria e por visualização em gel de agarose, sendo que o material ainda foi testado em uma PCR. A criação de uma nova imagem para o produto também foi desenvolvida obtendo-se um produto didático seguindo sua finalidade e com custo menor se comparado com outros kits comerciais. O produto foi validado internamente por grupos de pesquisa da UNISC. O objetivo deste projeto foi o aprimoramento do kit “CPTBio DNA *Extraction*” ampliando seu uso para amostras de biópsia parafinada, bactérias gram negativas e protozoários, com isso conseguimos um produto de extração de DNA desenvolvido *in house* com um custo menor gerando um DNA de qualidade e quantidade compatíveis para utilização em diversas técnicas moleculares.

Palavras-chave: Extração, DNA, Biotecnologia.

ABSTRACT

Deoxyribonucleic acid, known as DNA and an organic compound whose molecules contain as genetic instructions that coordinate the development and functioning of all beings, and transmit as hereditary characteristics of each living being. Its main function is stored as necessary information for a construction of proteins from RNAs. In biotechnology as information present in the molecules are analyzed and from the analysis and possible diagnostic modifications in the cell, it is necessary to extract the genetic material from the cell. Initially a product was developed in a house that can extract DNA from blood samples and biopsy in natura. In a new phase of development phase, start optimizing this, the idea is to improve the product and validate the product. The reagents already developed followed protocols adapted from Tost et al. (2003) and Miller et al. (2000), generating solutions such as: cell lysis and nuclear lysis (safety solutions for cell and nuclear membrane respectively), purification solution and rehydration solution (solution to resuspend the genetic material), as they are primordial solutions for extraction. In this work, more solutions were added to the kit to extract the genetic material from different samples, for which several protocols were studied, for the types of samples are very different and optimization of a protocol specific for each sample to one of the most importantly presented in this work, unqualified, protocols and solutions to extract DNA from in natura tissue, blood, paraffin biopsy, bacteria and protozoa. The extracted genetic material was evaluated by spectrophotometry and visualization in agarose gel, and the material was still tested in a PCR. A creation of a new image for the product was also developed by obtaining a didactic product following its purpose and at a lower cost compared to other commercial kits. The product was internally validated by UNISC research groups. The objective of this project was to improve the "CPTBio DNA Extraction" kit by expanding its use for paraffin-labeled biopsies, gram negative bacteria and protozoa, thereby achieving a DNA extraction product developed at home at a lower cost, generating DNA of quality and amount compatible for use in various molecular techniques.

Keywords: Extraction; DNA; Biotechnology