

Editorial / Editorial

## DNA e aperfeiçoamento das técnicas de extração

### DNA and improvement of extraction techniques

Valquiria Bueno

As técnicas de otimização da extração de DNA para a utilização na reação da polimerização em cadeia (PCR) têm permitido a investigação de diferentes amostras biológicas mesmo quando o DNA está presente em pequenas quantidades. Vários campos da ciência são beneficiados com esse aperfeiçoamento, como a medicina forense, as investigações criminais, exclusão de paternidade, a busca de marcadores tumorais ou agentes infecciosos, e o transplante de medula identificando a pega do enxerto. Pontas de cigarro, saliva, esfregaço bucal, soro, bulbos capilares, entre outros, podem fornecer informações importantes desde que analisados de forma adequada.

Neste volume, Barea e colaboradores, do Laboratório de Biologia Molecular do Hemocentro de Botucatu – Unesp, apresentam técnicas para a extração do DNA a partir de amostras biológicas variadas incluindo material de arquivo como tecido incluído em parafina, lâmina de hemograma e mielograma, gotas de sangue em Guthrie card; e fontes escassas, como esfregaço bucal, urina e bulbos capilares. O grupo teve por objetivo caracterizar o melhor método de extração, purificação e amplificação de DNA para cada amostra e padronização dos procedimentos técnicos a serem incluídos e apresentados no manual de Procedimentos Operacionais Padrão do Laboratório de Biologia Molecular do Hemocentro – HC-Unesp – Botucatu.

Outros grupos, como Heywood e colaboradores,<sup>1</sup> têm desenvolvido protocolos semelhantes mostrando ser possível a extração de DNA a partir de cabelo humano com a técnica de PCR para a amplificação do locus HLA-

DQA.<sup>1</sup> Os achados do grupo relatam que os maiores níveis de DNA foram encontrados na raiz capilar e que o uso de surfactantes para lavagem ou tinturas pode levar a diminuição desses valores.

A obtenção do DNA genômico pelos métodos convencionais inclui lise celular e procedimentos que tornam o DNA disponível para a extração. Para isso, vários são os passos laboratoriais necessários tornando o procedimento longo e fazendo com que o rendimento e a pureza do material nem sempre sejam adequados e que as concentrações inicialmente estimadas necessitem de reajustes para a seqüência do protocolo. Além disso, a excessiva manipulação da amostra pode degradar o DNA em vários níveis.

Hosono e colaboradores<sup>2</sup> relatam a importância da obtenção de DNA por métodos não invasivos, mesmo que em pequenas quantidades, principalmente em recém-nascidos. O grupo utilizou um protocolo específico para a obtenção de DNA diretamente da amostra biológica sem a necessidade de manipulação amplificando o genoma global (WGA) e gerando uma grande quantidade de DNA a partir de poucas células em comparação ao método convencional de extração e purificação. A técnica permitiu a amplificação direta a partir de amostras biológicas, como esfregaço bucal, sangue total, gota de sangue, avental de trabalho, e Guthrie cards.

A utilização das células obtidas através de esfregaço bucal para a obtenção de DNA tem sido criticada por alguns autores pela variação no rendimento e qualidade do DNA.<sup>3</sup> Para que a técnica possa ser aplicada com confiabilidade, o grupo ressalta que ela deve amplificar acura-

---

BSc – Bacharel em Ciências, PhD – Doutora em Ciências da Saúde, pós-doutorado em Imunologia de Transplantes – University of Oxford, Professora Adjunta da Disciplina de Imunologia da Famerp.

**Correspondência para:** Valquiria Bueno  
Rua Francisco Gigliotti 160, ap. 71 – São Manuel  
15091-280 – São José do Rio Preto-SP  
Tel.: 210 5700 ramal 5854  
E-mail: valquiriabueno@hotmail.com

damente o genoma sem a geração de *bias* no segmento onde os diferentes genes estão representados.

Os grupos citados utilizaram tecnologia avançada (equipamentos e reagentes) para a extração de DNA, o que pode significar alto custo e necessidade de pessoal especializado para trabalhar com a aparelhagem. A importância do trabalho proposto pelo grupo de Botucatu reside no fato de terem sido utilizadas as técnicas rotineiras de extração de DNA com modificações apenas em pequenos detalhes de acordo com a amostra biológica. As alternativas e resultados apresentados pelo grupo podem ser utilizados por outros centros para a obtenção de DNA a partir de amostras escassas ou material de arquivo.

### Referências Bibliográficas

1. Heywood DM, Skinner R, Cornwell PA. Analysis of DNA in hair fibers. *J Cosmet Sci* 2003;54:21-27.
2. Hosono S, Faruqi AF, Dean FB, et al. Unbiased whole-genome amplification directly from clinical samples. *Genome Res* 2003; 13:954-964.
3. Harty LC, Garcia-Closas M, Rothman N, et al. Collection of bucal cell DNA using treated cards. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9:501-506.

*Avaliação:* O tema abordado foi sugerido e avaliado pelo editor.

*Conflito de interesse:* não declarado

*Recebido:* 23/12/2004

*Aceito:* 05/01/2005