

Reciclagem de Agarose Usada em Laboratório de Biologia Molecular

Eva Choer; Lia Reiniger; Denilson Anthonisen; Luciene Cunha

INTRODUÇÃO

A agarose, juntamente com a acrilamida, é um dos principais meio-suporte usados na eletroforese de DNA ou de fragmentos de DNA. Entretanto, é necessário que a agarose seja de boa qualidade com reduzidos teores de íons sulfato e isenta de DNAses, RNAses e proteases.

Os laboratórios de biologia molecular despendem um volume considerável de recursos na aquisição deste produto importado, uma vez que seu preço no mercado é de cerca de 3,50 dólares/g.

A grande maioria dos laboratórios não têm o hábito de fazer reaproveitamento de agarose, e, os poucos que o fazem, usam o seguinte procedimento: juntam os géis utilizados guardando-os em sacos plásticos na geladeira, de modo que os resíduos tóxicos do brometo de etídio, usado na coloração do géis, ficam expostos. Aos poucos, esses géis são retirados da geladeira e levados ao forno de microondas para serem fundidos e reutilizados na confecção de um outro, de idêntica concentração e composição do gel original. Este reaproveitamento ocorre apenas uma vez, sendo após o gel descartado, contribuindo para o acúmulo de resíduos sólidos nos laboratórios.

O Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Clima Temperado (Embrapa/CPACT), comprometido com uma adequada destinação dos resíduos tóxicos gerados pela pesquisa e também pela otimização de seus recursos financeiros (redução de custos), vem desenvolvendo procedimentos para reciclagem de agarose.

Material e Métodos

O processo busca transformar novamente em pó, o gel usado na eletroforese das análises de DNA (quantificação, RAPD, microsátelite).

Os géis de agarose de diferentes concentrações foram reduzidos a fragmentos de aproximadamente 3,0 x 3,0 cm, depositados em um recipiente plástico, e imediatamente cobertos com água da torneira, na proporção de dois volumes de água para um do gel. Os fragmentos permaneceram nesta condição por três dias quando então a água foi trocada, na mesma proporção, ficando em repouso por 24 horas. Decorrido este período, foi efetuada nova troca da água, por mais 24 horas. A estas lavagens, seguiram-se outras duas com água destilada, repetidas por igual período e na mesma proporção de 2:1. Após 24 horas, a água foi retirada e os fragmentos depositados em bandeja plástica e colocados em estufa a temperatura de 60°C, durante ,aproximadamente, oito horas. A cada três horas os fragmentos foram revolvidos.

Os fragmentos secos foram moídos em moinho do tipo Wiley, reduzidos a pó, e colocados em frasco, semelhante a agarose nova.

Resultados e Discussão

A agarose reciclada foi testada em géis destinados a quantificar o DNA, por comparação com marcadores de fragmentos de tamanho conhecido, em análises com RAPD e microsátelites em genótipos de batata. Conforme pode ser observado na Figura 1, a resolução das bandas e o *background* do gel foram similares àqueles apresentados no gel de agarose nova.

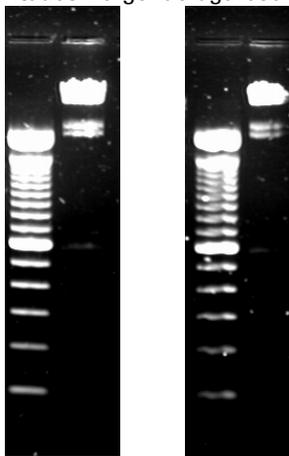


Figura 1. Marcador 100 bp \square Hind III em gel de agarose reciclada (esquerda) e em agarose nova (direita) a 1,2%.

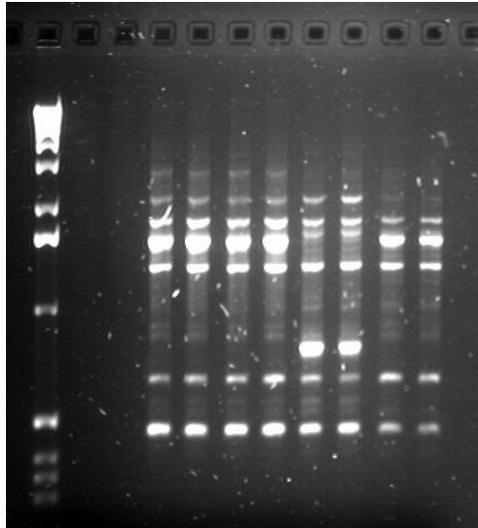


Figura 2. Eletroforese em gel de agarose reciclada de DNA de genótipos de batata amplificado pelo *primer* OPX 09.

Como vantagens desta reciclagem, podem ser citadas: redução do volume de resíduos tóxicos para descarte, diminuição nos custos de análise, possibilidade de misturar géis de diferentes concentrações de agarose e diferentes composição de tampões. Outra grande vantagem foi a transformação de géis já utilizados, em pó, facilitando o armazenamento em pequenos recipientes a temperatura ambiente por longo período de tempo.

CONCLUSÃO

A metodologia é eficiente em transformar a agarose novamente em pó, permitindo a confecção de géis de qualidade para uso em eletroforese.