

Introdução à extração de DNA

Basics of DNA extraction

September 21st, 2026

Extração de DNA / Purificação

DNA extraction / purification

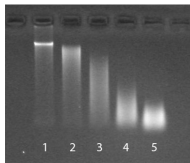
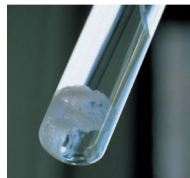
- A qualidade, pureza e quantidade de DNA necessária depende das aplicações
Quality, purity and amount of DNA required depends on intended application
- Possíveis aplicações:
Possible Applications:
 - Reacção em Cadeia da Polimerase
Polymerase Chain Reaction (PCR)
 - Sequenciação de fragmentos curtos
Short-read sequencing
 - Sequenciação de fragmentos longos
Long-read sequencing



Fases gerais da extração de DNA

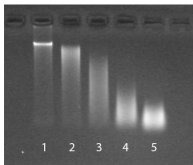
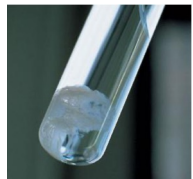
Basic steps of DNA extraction

- Lise de células ou tecidos
Disrupting cells or tissues
- Desnaturação de proteínas e complexos nucleoproteicos
Denature proteins and nucleoprotein complexes
- Inativar nucleases
Inactivate nucleases
- Purificação do DNA
Purify DNA



Para melhorar a quantidade e qualidade de DNA Improving DNA Quantity and Quality

- Maior quantidades e qualidades são obtidos a partir de material fresco ou congelado
Best yields and qualities are obtained from fresh or frozen material
- A quantidade de DNA será reduzida se as nucleases endógenas estiverem ativas
DNA yield will be reduced if endogenous nucleases are active
- Uso do vortex (aparelho para homogeneizar soluções) ou de outras forças mecânicas irá quebrar o DNA longo.
Vortexing or other mechanic forces will break long DNA



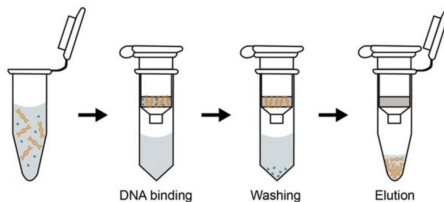
Ingredientes Típicos do Tampão de Lise

Typical Ingredients in Lysis Buffer

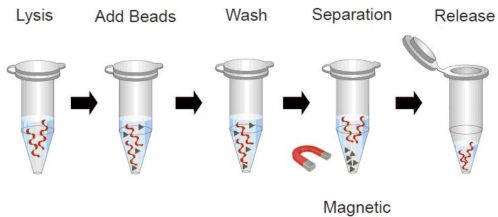
- TRIS: regula o pH e protege o DNA da degradação
TRIS: sets pH to protect DNA from degradation
- EDTA: agente quelante. Liga-se aos íons de cálcio e magnésio, tornando-os indisponíveis para as enzimas
EDTA: chelating agent. Binds calcium and magnesium ions making them unavailable for enzymes
- SDS: detergente que separa proteínas da membrana
SDS: detergent separates proteins from membrane
- Proteinase K: digere as proteínas
Proteinase K: digests proteins
- RNase A: remove o RNA
RNase A: removes RNA



(Silica) baseado em colunas
(Silica) column-based



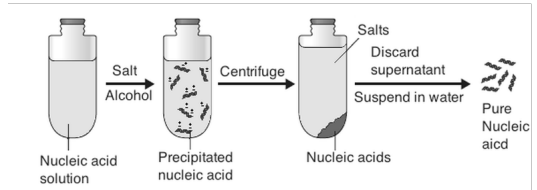
Esferas magnéticas
Magnetic beads



Precipitação com Etanol ou Isopropanol Ethanol or Isopropanol Precipitation

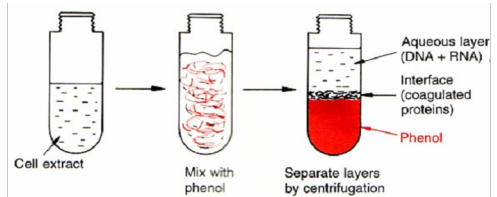
Método salino Salting Out

- Os íões de sódio carregados positivamente neutraliza a carga negativa do DNA
Positively charged sodium ions neutralize the negative charge of DNA)

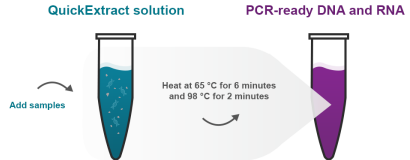


Fenol-clorofórmio Phenol-chloroform

- Rompe as ligações de hidrogénio e as interações hidrofóbicas de proteínas
Disrupts hydrogen bonds and hydrophobic interactions of proteins

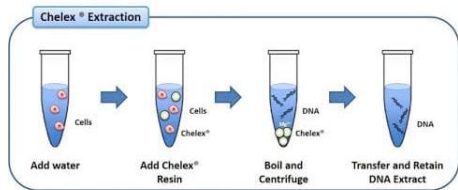


QuickExtract



Chelex

- Liga os íões metálicos que são importantes para a actividade da DNase
Binds metal ions important for DNase activity



Boas práticas para a extração de DNA

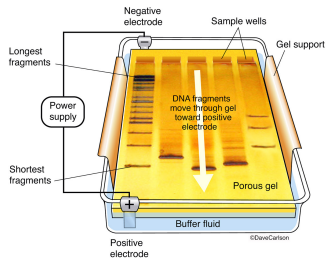
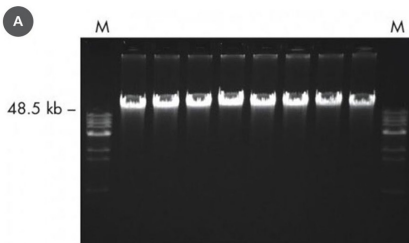
DNA extraction hygiene

- Controlo negativo da extração
Extraction Blank
- Limpeza com lixívia ou "DNA away" entre as amostras
Clean with bleach or DNA away between samples
- Troca de luvas frequente
Change gloves
- Trabalha com cuidado
Work carefully
- Planifica os passos previamente
Plan steps ahead
- Equipamento estéril ou de uso único
Sterile or single-use equipment

Medição do Tamanho e da Concentração do DNA

Measuring DNA Lengths and Concentration

- Electroforese em gel
Gel Electrophoresis



Medição da concentração de DNA

Measuring DNA concentration

- Fluorímetro Qubit

Qubit Fluorometer

- Usa corantes fluorescentes
Uses Fluorescent Dyes
- Diferentes Ensaios (DNA simples/dupla fita, RNA, Proteínas)
Different Assays (ss/dsDNA, RNA, Proteins)



Medição da Pureza do DNA

Measuring DNA Purity

- Espectrofotometro (NanoDrop)
Spectrophotometer (NanoDrop)
 - Mede as Propriedades de Transmissão ou Reflexão de um Material
Measures the Transmission or Reflection Properties of a Material
 - Os ácidos nucleicos absorvem a luz a 260 nm
Nucleic acids absorb light at 260 nm
 - As proteínas absorvem a luz a 280 nm
Proteins absorb light at 280 nm
 - Sais e outros contaminantes absorvem a luz a 230 nm
Salt and other contaminants absorb light at 230 nm

