

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE GÉIS DE AGAROSE E POLIACRILAMIDA NA ANÁLISE DE FRAGMENTOS DE DNA

Jacielly Aparecida Carvalho Netto¹, Caroline Vitoriano Reis¹, Adelson Lemes da Silva Junior², Gabrieli de Lourdes Sales¹, Norma Edith Zelaya¹, Tiago de Souza Marçal¹, Lucimara Cruz de Souza¹.

¹Universidade Federal de Lavras/Departamento de Biologia, Avenida Central, S/N, 37200-000, Lavras - MG, Brasil, jacielly.netto1@estudante.ufla.br, caroline.reis2@estudante.ufla.br, gabrieli.sales1@estudante.ufla.br, norma.zaldivar@estudante.ufla.br, tiago.marcal@ufla.br, lucimaraacruz@ufla.br.

²Universidade Federal de Lavras/Departamento de Ciências Florestais, Campus Universitário, S/N, 37200-000, Lavras - MG, Brasil, adelson.lemes@ufla.br,

Resumo

A eletroforese em gel é amplamente utilizada em biologia molecular para diferentes estudos, empregando principalmente matrizes de agarose e poliacrilamida. Este estudo teve como objetivo comparar a resolução dos géis de poliacrilamida e agarose na separação de fragmentos de DNA amplificados por *primers* microssatélites. Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida a 10% e em gel de agarose a 3%, avaliando-se a capacidade de resolução em ambas as matrizes. Os resultados demonstraram que a poliacrilamida apresentou maior poder de resolução, permitindo discriminar fragmentos com diferenças mínimas de tamanho e identificar um número superior de alelos em comparação à agarose. Conclui-se que, embora a agarose seja uma matriz prática e de menor custo, a poliacrilamida se mostra indispensável em estudos que requerem alta sensibilidade e confiabilidade.

Palavras-chave: Eletroforese. Fragmentos de DNA. PCR. Polimerização.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas. Genética.

Introdução

A eletroforese em gel é uma das técnicas mais empregadas na biologia molecular, sendo amplamente empregada na caracterização e análise de ácidos nucleicos e proteínas. Trata-se de um processo no qual moléculas carregadas são separadas sob a influência de um campo elétrico, em que a mobilidade depende de características físico-químicas específicas, como tamanho, conformação e carga elétrica. No caso do DNA, a separação é realizada com base no tamanho dos fragmentos, de modo que as moléculas menores migrem mais rapidamente que as de maior comprimento, possibilitando a visualização e comparação de padrões moleculares (Roberts; Dryden, 2013).

Entre as matrizes mais utilizadas, destacam-se o gel de agarose e o gel de poliacrilamida, que diferem quanto à composição, propriedades físico-químicas, capacidade de resolução e aplicações. O gel de agarose, de preparo relativamente simples, é amplamente aplicado na separação de fragmentos de moléculas grandes, como fragmentos de DNA, que variam de 100 pares de bases a várias megabases, oferecendo praticidade e boa estabilidade. Já o gel de poliacrilamida, de composição sintética e porosidade mais uniforme, apresenta maior capacidade de resolução, sendo indicado para a análise de fragmentos menores ou que exijam discriminação mais refinada. Essas diferenças estruturais influenciam diretamente na eficiência de separação e na nitidez das bandas, fatores que são determinantes para a interpretação de resultados em diferentes estudos (Westermeier, 2005).

A relevância da eletroforese torna-se ainda mais evidente quando associada à *Polymerase Chain Reaction* (PCR) e ao uso de marcadores moleculares. Essa integração amplia as possibilidades de investigação, permitindo a análise de similaridades genéticas, estudos taxonômicos, caracterização de diversidade, entre outros estudos (Syafudin, 2021). Entre os marcadores moleculares disponíveis,

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

os microssatélites (*Simple Sequence Repeats* – SSR) têm se destacado por sua alta reprodutibilidade, codominância e elevado grau de polimorfismo. Contudo, a precisão na detecção dos padrões de bandas gerados por SSR não depende exclusivamente da eficiência da PCR, mas também da matriz de gel escolhida, visto que a resolução obtida pode definir a capacidade de distinguir alelos próximos e identificar polimorfismos sutis (Sánchez-Pérez *et al.*, 2006).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo realizar uma análise comparativa da resolução dos géis de agarose e poliacrilamida na separação de fragmentos de DNA amplificados por PCR, utilizando quatro marcadores microssatélites, a fim de avaliar o desempenho de ambos e a contribuição para a seleção de matrizes adequadas para diferentes estudos.

Metodologia

Para a análise comparativa foram utilizados cinco clones de batata (*Solanum tuberosum*) (CCF 02-05, CCF 21-15, CCF 24-13, CCF 23-01 e CCF 02-19) provenientes do Programa de Melhoramento Genético da Batata (PROBATATA), previamente plantados e cultivados em casa de vegetação na Universidade Federal de Lavras (Fernandes Filho *et al.*, 2021). O DNA genômico foi extraído do tecido foliar jovem das plantas, segundo Doyle e Doyle (1987) com modificações. O tampão de extração foi ajustado para 1% de PVP e 2% de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB). Foram realizadas três etapas de desproteinização com clorofórmio álcool isoamílico (CIA) na proporção de 24:1. Para a precipitação do DNA utilizou-se 650 µL de álcool isopropílico gelado e 1/3 do volume de acetato de amônio (7,5M). O precipitado foi ressuspenso em 50 µL de H₂O ultrapura com RNase (40µg/mL). A quantificação do DNA genômico foi realizada por meio das leituras de absorbância (A260 / A280 e A260 / A230) no espectrofotômetro NanoDrop Lite Plus (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA).

O DNA extraído foi amplificado por PCR utilizando quatro pares de *primers* microssatélites pertencentes ao Kit de Identidade Genética para a Batata, desenvolvido por Ghislain *et al.* (2009). As PCR foram preparadas em volume final de 15µL, contendo: 30 ng de DNA genômico, tampão Tris-HCl 1 X, 2,5 mM MgCl₂, 0,8 mM de dNTPs, 0,5 µM de cada *primer* (*forward* e *reverse*) e 1 U de Taq DNA polimerase. O protocolo do termociclador consistiu em: desnaturação a 94°C por 4 minutos; 33 ciclos de 94°C por um minuto, anelamento por um minuto de acordo com a temperatura específica para cada *primer* (Tabela 1), seguido de 72°C por um minuto e extensão final de 4 minutos a 72°C.

Tabela 1 – Descrição dos *primers* utilizados no estudo

Primer	Alelos esperados	Temperatura de anelamento
STG0016	137 - 172	55°C
STM1106	145 - 211	50°C
STM1104	178 - 199	53°C
STI0003	137 - 188	56°C

Fonte: Ghislain *et al.* (2009) adaptado pela autora.

Primeiramente, os produtos da amplificação foram separados por eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE) a 10% utilizando tampão TBE 1 X sob tensão de 120 V por um período de 4 horas. Foi utilizado o marcador de peso molecular de 50 pb (Ludwig Biotecnologia, Alvorada, RS, Brasil).

Posteriormente, os produtos também foram avaliados em gel de agarose com concentração a 3%, preparado em tampão TBE 1 X e corado com brometo de etídio (EtBr). As amostras foram submetidas a eletroforese em tampão TBE 1 X, tensão de 100 V por uma hora. Após a corrida eletroforética, os géis de poliacrilamida e agarose foram fotografados em fotodocumentador L-PIX (Loccus Biotecnologia, Cotia, SP, Brasil), sob iluminação UV. As imagens obtidas foram analisadas quanto a resolução das bandas, considerando a capacidade de detecção dos fragmentos amplificados para cada par de *primers*.

Resultados

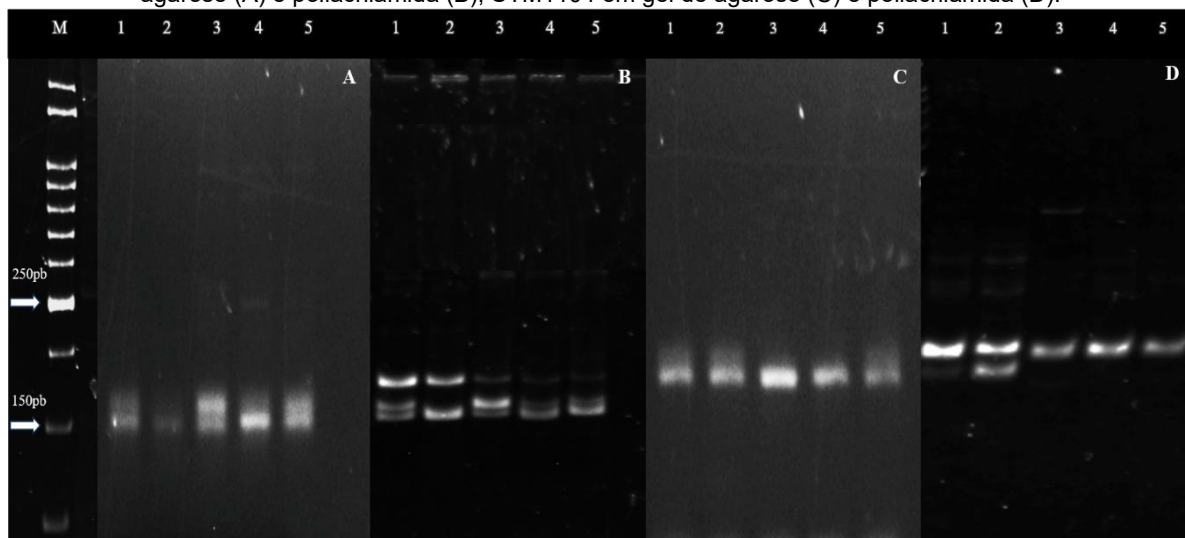
A comparação entre os géis de poliacrilamida e de agarose evidenciou diferenças expressivas na capacidade de detecção dos fragmentos amplificados pelos *primers* microssatélites. O gel de poliacrilamida apresentou maior poder de resolução, permitindo a discriminação de fragmentos com diferenças mínimas no tamanho e possibilitando a detecção de um número superior de alelos em relação ao gel de agarose.

Na avaliação do *primer* STM1106 (Figura 1), verificou-se que o gel de poliacrilamida (B) possibilitou a detecção de até três alelos distintos entre os clones analisados, com variação de tamanho entre 157, 163 e 175 pb. Em contraste, no gel de agarose (A) a detecção restringiu-se a um ou dois alelos, sem distinção nítida entre os fragmentos. Para o *primer* STM1104 (Figura 1), ambos os géis permitiram a identificação de um a dois alelos (178 e 195 pb). Contudo, o gel de poliacrilamida (D) apresentou maior poder de resolução, evidenciando diferenças mais claras entre os fragmentos amplificados em comparação ao gel de agarose (C).

Na análise do *primer* STI0003 (Figura 2), foram identificados de um a dois alelos (170 e 179 pb) tanto no gel de agarose (A) quanto no de poliacrilamida (B), sendo que este último proporcionou bandas mais definidas. Já para o *primer* STG0016 (Figura 2), o gel de poliacrilamida (D) revelou maior capacidade discriminatória, permitindo a distinção de fragmentos variando em 143, 148 e 154 pb entre os clones avaliados. Em contrapartida, no gel de agarose (C) foi detectado um fragmento quase uniforme para todos os cinco clones, evidenciando sua menor eficiência em diferenciar variações alélicas sutis.

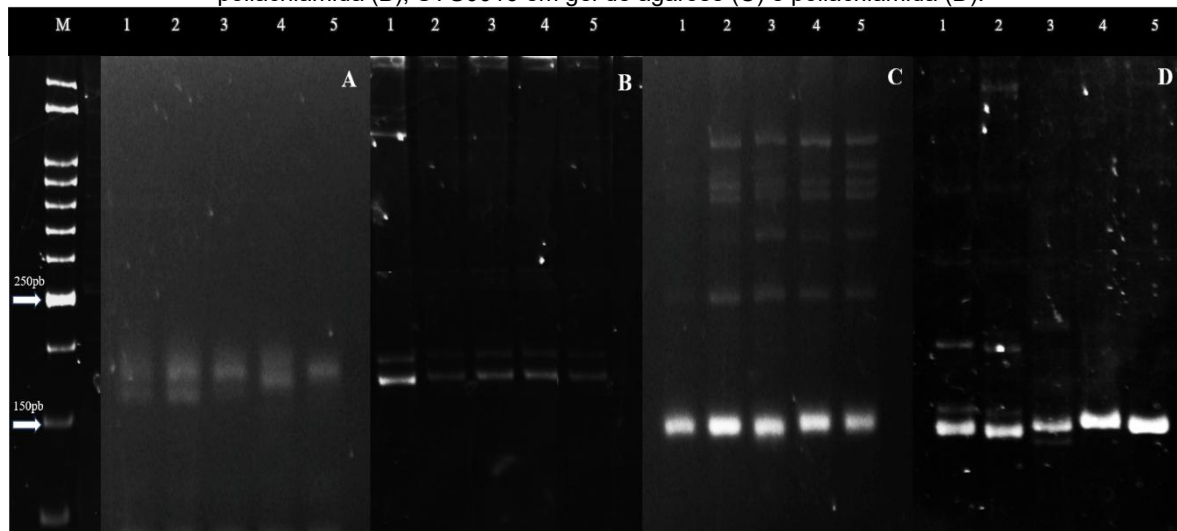
Em síntese, os perfis eletroforéticos obtidos não foram equivalentes entre os dois tipos de gel, evidenciando que a escolha da matriz de separação exerce influência direta sobre a resolução e a precisão de análises para diferentes estudos.

Figura 1: Resolução dos fragmentos amplificados pelos *primers* STM1106 e STM1104 em gel de agarose e em gel de poliacrilamida. M – Marcador molecular (50pb); Linhas (1 - 5) representam os clones de batata (CCF02-05, CCF21-15, CCF24-13, CFF23-01, CCF02-19) respectivamente. *Primers* – STM 1106 em gel de agarose (A) e poliacrilamida (B); STM1104 em gel de agarose (C) e poliacrilamida (D).



Fonte: Do autor, 2025.

Figura 2: Resolução dos fragmentos amplificados pelos *primers* STI0003 e STG0016 em gel de agarose e em gel de poliacrilamida. M – Marcador molecular (50pb); Linhas (1 - 5) representam os clones de batata (CCF02-05, CCF21-15, CCF24-13, CFF23-01, CCF02-19) respectivamente. *Primers* – STI0003 em gel de agarose (A) e poliacrilamida (B); STG0016 em gel de agarose (C) e poliacrilamida (D).



Fonte: Do autor, 2025.

Discussão

Na eletroforese, o poder de resolução dos géis, isto é, a capacidade de distinguir fragmentos de DNA com diferentes comprimentos, e a qualidade das bandas são parâmetros essenciais para a interpretação confiável dos resultados. Esses fatores impactam diretamente a eficiência dos experimentos e podem ser influenciados por diferentes variáveis, sendo a concentração do gel uma das principais, pois determina o tamanho dos poros formados na matriz (Lee; Bahaman, 2012).

A eletroforese em gel de agarose é amplamente utilizada por sua simplicidade, baixo custo e eficiência na separação de fragmentos maiores de DNA. Nesse sistema, quanto maior a concentração de agarose, menor o tamanho dos poros e, conseqüentemente, maior a resolução (Lee *et al.*, 2012). Por outro lado, fragmentos abaixo de 100 pb são separados com mais eficácia em géis de poliacrilamida, cuja matriz é formada por polimerização química, resultando em uma estrutura mais uniforme e de alta densidade. Por essas características, este sistema oferece um maior poder de resolução e permitem distinguir diferenças de até 2 pb (Lee *et al.*, 2012; Bommi; Ferguson, 2005).

Estudos comparativos, como o de Sánchez-Pérez *et al.* (2006), demonstraram que a eletroforese em poliacrilamida apresenta desempenho equivalente ao de sequenciadores capilares automatizados para análise de polimorfismos em marcadores SSRs, superando o gel de agarose quando as diferenças de tamanho entre os alelos eram muito pequenas (1–5 pb). Esses resultados reforçam a superioridade da poliacrilamida em análises que demandam maior precisão, como em estudos de diversidade genética e avaliação de parentesco.

Assim, a escolha entre agarose e poliacrilamida deve considerar o tamanho dos fragmentos-alvo, a resolução necessária e o objetivo da análise. Enquanto a agarose é mais indicada para fragmentos maiores e diferenças mais amplas entre bandas, a poliacrilamida é indispensável quando se busca detectar variações sutis de tamanho. Essa comparação é crucial para otimizar protocolos experimentais e garantir resultados mais confiáveis, especialmente em estudos que exigem alta sensibilidade na detecção de polimorfismos.

Conclusão

Os resultados obtidos demonstram que a poliacrilamida apresenta um desempenho superior na detecção de fragmentos de tamanhos próximos, garantindo maior resolução e precisão na análise de microsatélites. Embora o gel de agarose seja uma alternativa prática e de menor custo para análises mais gerais, sua menor capacidade de discriminar fragmentos reduz a confiabilidade em estudos que exigem maior precisão. Dessa forma, a escolha da matriz deve considerar o nível de detalhamento necessário, assegurando que o método empregado esteja alinhado aos objetivos específicos de cada estudo.

Referências

- BOMMI, P.; FERGUSON, D. L. Soybean cultivar identification within a selected group using only an agarose gel system with simple sequence repeat DNA markers. **Soybean Genetics Newsletter**, v.32, p.1-7. 2005.
- DOYLE, J. DNA protocols for plants. In: **Molecular techniques in taxonomy**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. p. 283-293. 1991.
- FERNANDES FILHO, C. C.; ANDRADE, M. H. M. L.; DE SOUZA MARÇAL, T.; FERNANDES, M. O.; BASTOS, A. J. R.; GUEDES, M. L.; RIBEIRO, S. R. R. P.; PINTO, C. A. B. P.; NUNES, J. A. R. Selection of potato clones for heat tolerance and resistance to potato viruses X and Y for processing purposes. **Crop Science**, v. 61, n. 1, p. 552-565, 2021.
- GHISLAIN, M.; NÚÑEZ, J.; DEL ROSARIO HERRERA, M.; PIGNATARO, J.; GUZMAN, F.; BONIERBALE, M.; SPOONER, D. M. Robust and highly informative microsatellite-based genetic identity kit for potato. **Molecular breeding**, v. 23, n. 3, p. 377-388, 2009.
- LEE, P. Y.; COSTUMBRADO, J.; HSU, C. Y.; KIM, Y. H. Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments. **Journal of visualized experiments: JoVE**, n. 62, p. 3923, 2012.
- LEE, S. V.; BAHAMAN, A. R. Discriminatory power of agarose gel electrophoresis in DNA fragments analysis. **Gel electrophoresis-principles and basics**, p. 41-56, 2012.
- ROBERTS, G. A.; DRYDEN, D. T. F. DNA electrophoresis: historical and theoretical perspectives. In: **DNA Electrophoresis: Methods and Protocols**. Totowa, NJ: Humana Press. p. 1-9. 2013.
- SÁNCHEZ-PÉREZ, R.; BALLESTER, J.; DICENTA, F.; ARÚS, P.; MARTÍNEZ-GÓMEZ, P. Comparison of SSR polymorphisms using automated capillary sequencers, and polyacrylamide and agarose gel electrophoresis: implications for the assessment of genetic diversity and relatedness in almond. **Scientia Horticulturae**, v. 108, n. 3, p. 310-316, 2006.
- SYAIFUDIN, M. Gel electrophoresis: The applications and its improvement with nuclear technology. In **AIP Conference Proceedings**. AIP Publishing LL, p. 050008, 2021.
- WESTERMEIER, R. Gel eletrophoresis. **Encyclopedia of life sciences**, v. 433, p. 210-212. 2005.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) - Código de Financiamento 001 e da Universidade Federal de Lavras (UFLA).