



ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

**ANÁLISE DE MICROSSATÉLITES PARA IDENTIFICAÇÃO
E CONTROLO DE FILIAÇÃO EM EQUINOS**

Engenharia das Ciências Agrárias - Ramo Animal

Relatório do Trabalho de Fim de Curso

Manuel Pedro Ferreira Garcia de Vargas

—◆—
CASTELO BRANCO

2002

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS

RESUMO

ABSTRACT

1 – INTRODUÇÃO.....	4
2 – A GENÉTICA MOLECULAR NA IDENTIFICAÇÃO CAVALAR.....	5
2.1 – O DNA.....	5
2.2 – O USO DE MICROSSATÉLITES NA TIPIFICAÇÃO DE DNA.....	6
2.3 – A AMPLIFICAÇÃO POR PCR.....	8
2.4 – ANÁLISE DA EXCLUSÃO.....	10
2.5 – A TIPIFICAÇÃO POR DNA VERSUS OUTROS MÉTODOS.....	11
2.6 – O LABORATÓRIO DE GENÉTICA MOLECULAR DE ALTER DO CHÃO.....	14
2.7 – O BANCO DE DNA.....	16
3 - MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 – EXTRACÇÃO DE DNA.....	18
3.2 – EXTRACÇÃO POR KIT.....	22
3.3 – LEITURAS.....	23
3.4 – DILUIÇÕES E APLICAÇÃO EM SPOT-GEL	25
3.5 – POLYMERASE CHAIN REACTION – PCR.....	26
3.6 – ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA.....	29
3.7 – MULTIPLEX E MULTILOADING.....	32
3.8 – VISUALIZAÇÃO E LEITURA DE RESULTADOS.....	33
3.9 – CONTROLO DE FILIAÇÃO.....	36
4 – RESULTADOS.....	38
5 – CONCLUSÃO.....	46
BIBLIOGRAFIA.....	48
ANEXOS	

RESUMO

Constantemente ouvimos referências a novas técnicas de Biologia Molecular, que permitirão num futuro mais ou menos próximo, um renovar de novas perspectivas em relação ao fascinante mundo da Genética Molecular. Neste ponto, podemos referir a utilização de marcadores moleculares que permitem uma importante base para estudos filogenéticos e de identificação animal.

Este presente trabalho tem como base, apresentar as técnicas utilizadas no Laboratório de Genética Molecular de Alter do Chão. Técnicas que vão desde a extracção de DNA até ao sequenciamento de produtos de PCR (Polymerase Chain Reaction), que permite a visualização em gel de poliacrilamida dos marcadores genéticos (microsatélites), em uso no Laboratório.

Outro aspecto referido neste trabalho, são as perspectivas de futuro do Laboratório. Futuro que já chegou, com a utilização de novas técnicas de Multiplex de PCR (preparação em simultâneo de mais do que um microsatélite no PCR), Multiloading (aplicação de vários produtos de PCR em um único gel) e o incremento de mais três microsatélites aos testes de rotina (AHT4, AHT5 e HMS6). Talvez mais importante contudo, será possibilidade de se passarem a fazer testes em outras raças como sejam bovinos e possivelmente cães.