

Protocolo de extração de RNA sem uso de nitrogênio líquido e avaliação da “Vida de Prateleira” de *Pellets*

Ana Cláudia Oliveira Barbosa¹; Taís Araújo Santos²; Amanda Gabrielly Santana Silva³; Dina Gutierrez⁴; Matthieu Chabannes⁵; Claudia Fortes Ferreira⁶

¹Mestranda em Genética e Biologia Molecular da Universidade Estadual de Santa Cruz, aina-cob2@hotmail.com;

^{2,3}Estudantes de Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, tai19@hotmail.com,

manda.gaby@hotmail.com; ⁴INIA: Instituto Nacional de Innovación Agraria, Lima, Peru. dinagutierrez12@gmail.com;

⁵CIRAD, UMR BGPI, F-34398 Montpellier, França and BGPI, Univ Montpellier, CIRAD, INRA, Montpellier SupAgro, Montpellier, França, matthieu.chabannes@cirad.fr; ⁶Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura; Claudia Fortes Ferreira, claudia.ferreira@embrapa.br.

A extração de RNA de tecidos vegetais específicos é o primeiro passo para estudos de expressão gênica e caracterização de transcritos. Nos protocolos de rotina, o uso do nitrogênio líquido é indispensável para auxiliar a retirada dos ácidos nucleicos do núcleo da célula durante o processo de maceração. No entanto, sabe-se que o custo do de nitrogênio líquido é pode se tornar bastante elevado. A possibilidade de aliar rapidez à robustez e baixo custo aos protocolos, contribui para o dinamismo e contenção de gastos em laboratórios, que, ao final de um ano, podem trazer muitos benefícios. Com o aumento do uso de técnicas de sequenciamento de alto rendimento ou High Throughput Screening (HTS), por vezes conduzido no exterior, o RNA acaba sendo degradado na chegada ao destino final – principalmente com a proibição recente das companhias aéreas do uso do gelo seco para manter a integridade da molécula. Portanto, o objetivo da proposta foi validar um novo protocolo para extração de RNA com uso de furadeira de bancada para substituir os gastos com nitrogênio líquido, bem como avaliar a “vida de prateleira” dos *pellets* de RNA de forma a promover um transporte mais adequado permitindo menor degradação da molécula. Para isso foram feitas as extrações do RNA de folhas e raízes das principais culturas da Embrapa Mandioca e Fruticultura, a citar: banana, abacaxi, citros, mamão, maracujá e mandioca. A integridade do RNA total das folhas e raízes foi validada em géis de agarose 1%. Uma vez obtidos os *pellets* de RNA, foi avaliada a “vida de prateleira” dos mesmos, onde as amostras foram submetidas à temperatura ambiente por 21 dias. A extração de ácidos nucleicos com uso da furadeira de bancada foi idealizada no CIRAD – Baillarguet em Montpellier – França e CIP-Lima Peru. O método de extração com auxílio da furadeira de bancada mostrou-se eficiente na obtenção de RNA de qualidade, que está contribuindo para redução de gastos no laboratório de Biologia Molecular. O teste de conservação do *pellet* de RNA “vida de prateleira” foi altamente satisfatório, com manutenção da integridade da molécula visualizada em gel de agarose 1% após 3 semanas em bancada em temperatura ambiente. Certamente essa informação é de grande valia também para os pesquisadores que dependem do transporte de RNA para outros países visando análises HTS.

Significado e impacto do trabalho: Embora existam vários protocolos de extração de ácidos nucleicos consolidados para inúmeras culturas, a maioria faz uso do nitrogênio líquido o que atribui grandes custos para os laboratórios de Biologia Molecular. A validação do protocolo de extração sem uso do nitrogênio líquido e a conservação do RNA em temperatura ambiente é um grande avanço na contenção de gastos e ampliação de possibilidades de extração de ácidos nucleicos, possibilitando maior dinamismo nos laboratórios que fazem uso da técnica.