



Avaliação de dois métodos para extração de RNA total de células da granulosa de fêmeas suínas

Silva, PV¹; Miranda, CL¹; Fonseca, I¹; Guimarães, MFM²; Guimarães, SEF¹; Nascimento, CS¹; Lopes, PS¹; Guimarães, JD³

¹Departamento de Genética e Melhoramento, Universidade Federal de Viçosa

²Embrapa Gado de Leite

³Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa
priscilavendra@yahoo.com.br

Palavras-chave: Trizol, Kit RNeasy Mini (Qiagen), espectrofotometria

A extração de RNA total exige maiores cuidados que aqueles dedicados à extração de DNA, devido a sua menor estabilidade e susceptibilidade à degradação por RNases. A qualidade do material de RNA inicial tem grande impacto nas análises subsequentes. Nesse trabalho foram testadas duas diferentes técnicas de extração de RNA de células da granulosa de ovários de fêmeas suínas, com o objetivo de compará-las para otimização e utilização em posteriores análises laboratoriais. Foram coletadas amostras do líquido folicular de três porcas de alta e três de baixa prolificidade. Para cada amostra foram coletadas células da granulosa por punção e aspiração folicular. Foi realizada a contagem do número de células para ajustar ao volume de reagentes requeridos nos protocolos. Após a aspiração, as células da granulosa foram peletizadas por centrifugação do líquido folicular, lavadas em PBS 1X e ressuspensas no mesmo reagente para extração do RNA por meio dos seguintes protocolos: com Trizol (Invitrogen) e com o RNeasy Mini Kit (Qiagen); para ambos os protocolos foi realizado o tratamento com DNase do RNA total extraído. O RNA total obtido foi quantificado por espectrofotometria e sua qualidade foi verificada em gel de agarose 1,2%. Nos dois métodos um agente caotrópico foi utilizado para lisar células e inativar RNases endógenas. O reagente trizol rompe as células e separa o RNA de contaminantes por meio da utilização de agentes desnaturantes e inibidores de RNase. O Kit RNeasy Mini é baseado na ligação seletiva do RNA a uma membrana de sílica-gel. O RNA extraído com Trizol apresentou concentração e razão de absorvância (A_{260}/A_{280}) média de 89,6 ng/ μ l e 1,89 respectivamente. A extração com Kit RNeasy Mini utilizando tratamento com DNase apresentou concentração média de 10,35 ng/ μ l e razão média de 2,01. O método de extração de RNA com Trizol mostrou-se mais eficiente, pois apresentou maior concentração e razão (A_{260}/A_{280}) dentro dos limites de pureza recomendáveis.

Apoio financeiro: FAPEMIG, FINER, CAPES e CNPq.