

Análise de qualidade de RNA para estudo do perfil transcriptômico de animais extremos para eficiência alimentar da raça Nelore

Viviane Serra¹; Polyana Cristine Tizioto²; Priscila Silva Neubern de Oliveira²; Andressa Oliveira de Lima²; Gustavo Gasparin³; Luiz Lehmann Coutinho³; Gerson Barreto Mourão³; Luciana Correia de Almeida Regitano⁴

¹ Aluna de graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP, vih_serra@hotmail.com.

² Departamento de Genética e Evolução, UFSCar, São Carlos, SP.

³ Departamento de Zootecnia, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Esalq-USP), Piracicaba, SP.

⁴ Pesquisadora, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

O sequenciamento de RNA (RNA-Seq) tem sido amplamente utilizado para obtenção de perfis transcriptômicos de indivíduos extremos fenotípicos, visando à exploração de dados de expressão gênica diferencial em larga escala. A qualidade do RNA extraído de tecidos específicos é importante para garantir a confiabilidade dos dados provenientes de RNA-Seq. O estudo de RNA-Seq em animais extremos para eficiência alimentar, por exemplo, pode ser útil para identificação de genes e vias metabólicas que influenciam essa característica de interesse econômico para pecuária de corte, além de permitir a identificação de isoformas distintas, polimorfismos, etc. O objetivo desse trabalho foi realizar a extração e visualização da qualidade, quantidade e integridade dos RNAs extraídos de tecidos hepáticos, amostrados de animais extremos para consumo alimentar residual (CAR), a fim de garantir o sucesso de um experimento de RNA-Seq. Para isso, foram extraídas amostras de 30 animais, sendo 15 de cada extremo. Os animais foram confinados na Embrapa Pecuária Sudeste, em baias coletivas, com cochos individuais e portão eletrônico, ou em baias individuais, possibilitando a avaliação do consumo diário. Os períodos de adaptação e experimental foram cerca de 28 e 100 dias, respectivamente, sendo o último dependente do grau de terminação dos animais. A dieta básica, formulada para conter 13% de proteína bruta e 71% de nutrientes digestíveis. Os animais foram selecionados de acordo com valores BLUP (Best Linear Unbiased Prediction) estimados para CAR. As amostras foram coletadas durante o abate dos animais e imediatamente armazenadas em nitrogênio líquido para o transporte. Após a extração de RNA utilizando-se Trizol (Invitrogen®), com posterior tratamento com DNase para eliminar possíveis contaminações com DNA, avaliou-se a integridade das amostras, primeiramente submetendo-as à eletroforese em gel de agarose. Quando atestada a integridade do RNA por eletroforese, as amostras foram também analisadas, utilizando o equipamento Bioanalyser (Agilent Technologies®), uma abordagem mais sensível, para avaliar a integridade, qualidade e quantidade dos RNAs extraídos. Os resultados do Bioanalyser forneceram uma pontuação de integridade (RIN – *RNA Integrity Number*) para cada amostra, variável de 1 a 10. A média e desvio-padrão obtidos foram de $8,00 \pm 0,30$, sendo os valores mínimo e máximo observados de 7,1 e 8,5, respectivamente. Ambas as técnicas utilizadas para atestar a qualidade do RNA evidenciaram que as amostras estavam adequadas para serem submetidas ao sequenciamento. A técnica de eletroforese em gel de agarose, apesar de ser menos sensível, é importante para uma avaliação prévia das amostras fornecendo o embasamento sobre a posterior submissão das mesmas para uma abordagem mais específica e de alto custo realizada pelo Bioanalyser.

Apoio financeiro: PIBIC/CNPq.

Área: Genética e Melhoramento Animal.