

Avaliação de métodos alternativos para transporte e para armazenamento de tecidos e de amostras de RNA

Juliana Roberta Torini de Souza¹, Adriana Mércia Guarantini Ibelli², Ana Rita Araújo Nogueira³ e Luciana Correia de Almeida Regitano³

¹ Aluna de graduação do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário Central Paulista, São Carlos, SP; estagiária da Embrapa Pecuária Sudeste; bolsista do PIBIC do CNPq.

² Aluna do Programa de Pós-graduação em Genética e Evolução, da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP; estagiária da Embrapa Pecuária Sudeste; bolsista da CAPES.

³ Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste.

A possibilidade de degradação enzimática de amostras de RNA faz com que haja necessidade de métodos adequados de armazenamento e de extração dessa molécula. Dessa maneira, há busca por métodos alternativos de armazenamento e de transporte, mais seguros e menos dependentes de energia elétrica do que os métodos atuais. O objetivo deste projeto foi comparar a qualidade e a integridade de RNA extraído de tecidos armazenados em RNA^{later}² e de tecidos crioliofilizados, e adaptar um método alternativo de armazenamento e de transporte de amostras de RNA. O estudo envolveu a avaliação de cinco métodos, com quatro repetições. Em cada repetição foi utilizado 1 g de tecido intestinal de quatro bovinos. Dessa quantidade, 500 mg foram divididos em duas partes: metade foi mergulhada em 3 mL de RNA^{later}² e mantida em freezer a -20°C, e a outra parte foi crioliofilizada e mantida em temperatura ambiente livre de umidade. O RNA foi extraído dos 500 mg restantes e dividido em cinco alíquotas iguais. Essas alíquotas foram armazenadas de cinco formas: por crioliofilização, em solução de FORMAZOL² a -20°C, em solução de FORMAZOL² a 4°C, em água tratada com dietilpirocarbonato (DEPC) em freezer a -80°C e em etanol a 75% em freezer a -80°C. Após dez dias, o RNA dos tecidos armazenados em RNA^{later}² e dos crioliofilizados foi extraído. O RNA estocado foi processado e ressuscitado em 50 µL de água tratada com DEPC. A quantidade foi avaliada por espectrofotometria e a qualidade do RNA foi observada em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio (5 µg/ml). As amostras de RNA estavam íntegras antes de serem estocadas. O RNA de tecido armazenado em RNA^{later}² resultou em média da razão de absorvância (260/280) de 1,92 e em média de concentração de 1.636 ng/µL. Após o armazenamento do tecido crioliofilizado, a média da razão 260/280 do RNA foi de 1,86 e a média de concentração, de 2.073 ng/µL. A comparação visual das cinco formas de armazenamento de RNA, observando-se a intensidade luminosa das bandas de 18S e de 28S em gel de agarose a 1%, permitiu concluir que apenas as amostras armazenadas a -80°C em solução aquosa sofreram degradação no período avaliado. Os métodos de armazenamento das amostras em agentes químicos foram eficazes. Porém, embora sejam dependentes de aparelhos menos sofisticados e de custo menor, esses métodos ainda são dependentes de energia elétrica. Já as amostras liofilizadas e depois reidratadas em água livre de RNase permaneceram íntegras e apresentaram aspecto semelhante ao das amostras não liofilizadas; esse resultado indica que este pode ser um método eficaz tanto para o armazenamento quanto para o transporte de amostras de RNA, pois não requer o uso de energia nesses procedimentos.