

AVALIAÇÃO DA QUANTIDADE E QUALIDADE DE RNA EXTRAÍDO PARA O DIAGNÓSTICO DE VÍRUS EM CAMARÃO MARINHO

Alitieni M. L. Pereira; Jeudys A. Oliveira & Angela P. Legat

Embrapa Meio-Norte, BR 343, km 35, C.P. 341, Parnaíba, PI, 64200-970.
alitiene@cpamn.embrapa.br

A quantidade de RNA e a presença de impurezas no produto extraído são fatores que influenciam o sucesso de diagnóstico de um vírus de RNA através da reação em cadeia da polimerase (PCR). Esses fatores podem impedir a reação específica com os iniciadores durante a PCR e conseqüentemente, apresentar um falso negativo. Esse trabalho avaliou o rendimento e a pureza do RNA extraído com TRIzol® e com dois kits comerciais a fim de escolher o método mais eficiente para o diagnóstico por PCR para vírus de RNA em camarão marinho. Amostras de brânquias foram pesadas (50mg) e as extrações seguiram as recomendações dos fabricantes. A quantidade de RNA e a presença de impurezas foram analisadas através de fluorometria e espectrofotometria (QUBIT e Nanodrop, respectivamente). A extração com TRIzol® demonstrou desempenho superior. Seus resultados em relação à pureza do RNA, determinada na relação da absorbância 260/280nm, variaram entre 1,9 a 2, indicando baixa quantidade de proteínas ou outros contaminantes, porém, após a amplificação da banda, também apresentou maior rastro quando comparado com os kits comerciais. Isso pode indicar que apesar de possuir um baixo índice de contaminação, apresenta maior degradação de RNA. A quantidade de RNA extraído variou de acordo com as amostras, sendo os maiores valores obtidos para a extração com TRIzol®. Apesar da quantidade de tecido padronizada para todas as extrações a grande variação nas quantidades de RNA extraído não pode ser provocada exclusivamente pelo método de extração, podendo ser atribuída a outros fatores tais como variação biológica, coleta, além de qualidade e preservação da amostra.

Financiamento: CNPq Processo 477124/2006-2