

Extração de RNA em *Cochlospermum regium* (Schrank) Pilg. (Bixaceae): superando a recalcitrância da espécie

Salvato, L. A; Nascimento, K. C; Souza, C. S; Koehler, A. D; Araújo, H. H; Otoni, W. C.

ODS9

Pesquisa

Introdução

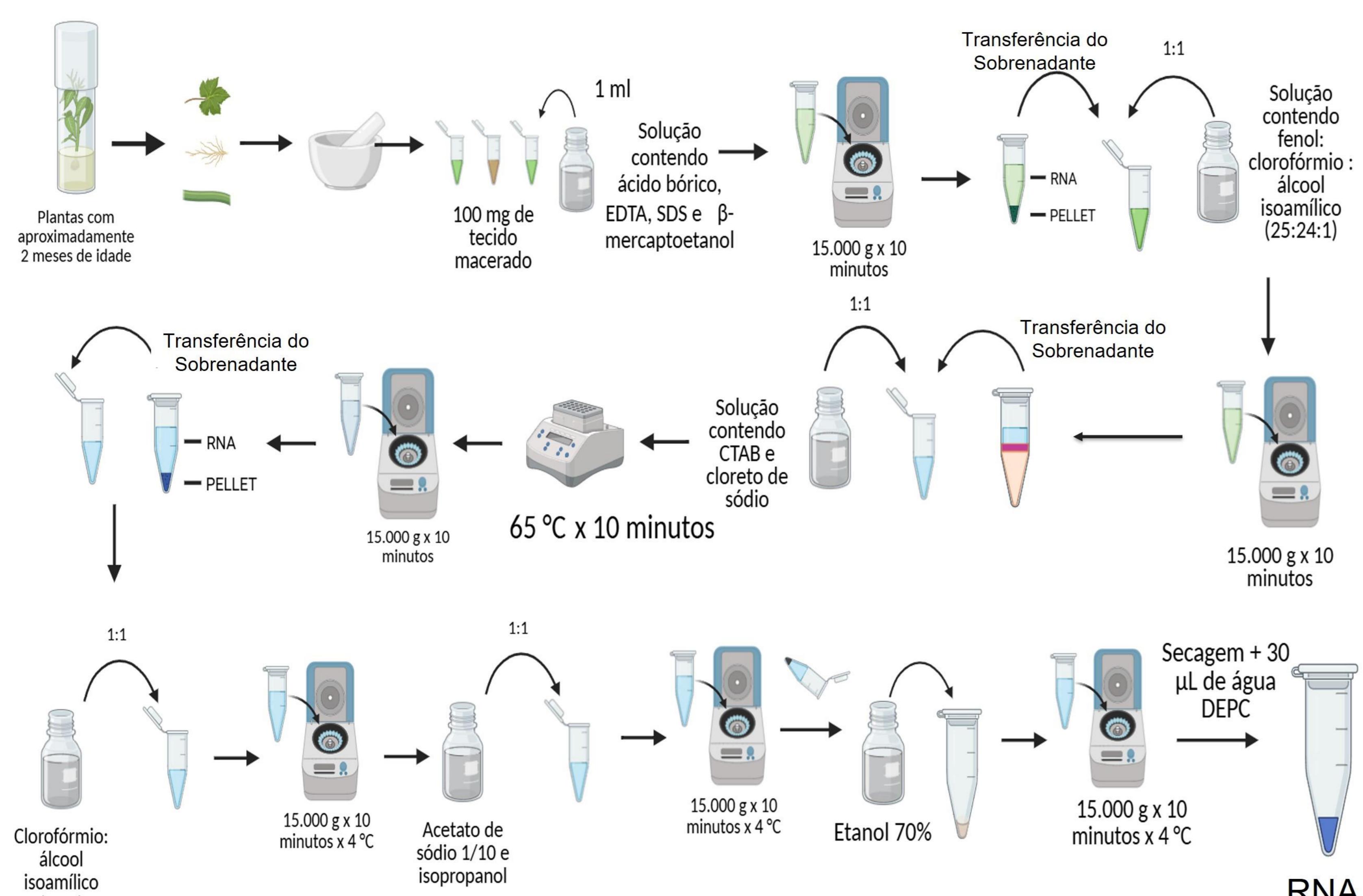
A espécie *Cochlospermum regium*, popularmente conhecida como “algodãozinho-do-cerrado”, é uma planta nativa reconhecida por suas propriedades medicinais. No entanto, destaque-se que seu elevado teor de polissacarídeos, taninos e polifenóis representa um desafio para a aplicação de técnicas de biologia molecular, dentre elas a extração de RNA total.

Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver um protocolo de extração de RNA adaptado para a espécie. Foram testadas duas metodologias: I) baseada em Rodrigues *et al.* (2007), com adaptações e II) utilizando o kit RNAqueous™ (Total RNA Isolation Kit, InVitrogen).

Material e Métodos

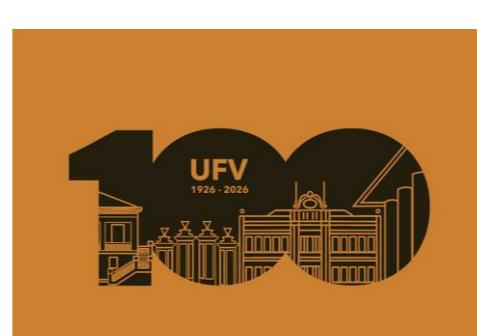
• Metodologia I:



Feito pelo aplicativo Biorender por Louise Salvato.

• Metodologia II: de acordo com as instruções do fabricante.

Agradecimentos



Apoio Financeiro



Resultados

A metodologia I foi adequada para extração de RNA de folhas, ao passo que a metodologia II adequou-se para caules e raízes. Em ambos os protocolos obteve-se RNA com concentração e qualidade adequadas para uso em análises moleculares. Reações de transcrição reversa foram realizadas para obtenção de cDNAs, utilizados para amplificação de genes endógenos normalizadores com primers heterólogos para os genes 18S, RLP38, RPS9, Actina, 40S3 e GPDH. Os primers 18S, RPL38 e GPDH permitiram a amplificação de fragmentos de tamanhos esperados.

A	Quantificação de RNA					
	RNA Não Tratado		RNA Tratado			
Amostras	Razão A ₂₆₀ /230	RNA Total (lg/g FW)	Amostras	Razão A ₂₆₀ /230	RNA Total (lg/g FW)	
Folha - Metodologia I	1.77	209.3	Folha - Metodologia I	1.85	144.4	
Folha - Metodologia II	1.47	185.4	Folha - Metodologia II	1.55	131.6	
Caule - Metodologia II	1.9	108.5	Caule - Metodologia II	1.9	88.1	
Raiz - Metodologia II	1.9	78.8	Raiz - Metodologia II	1.95	63.9	

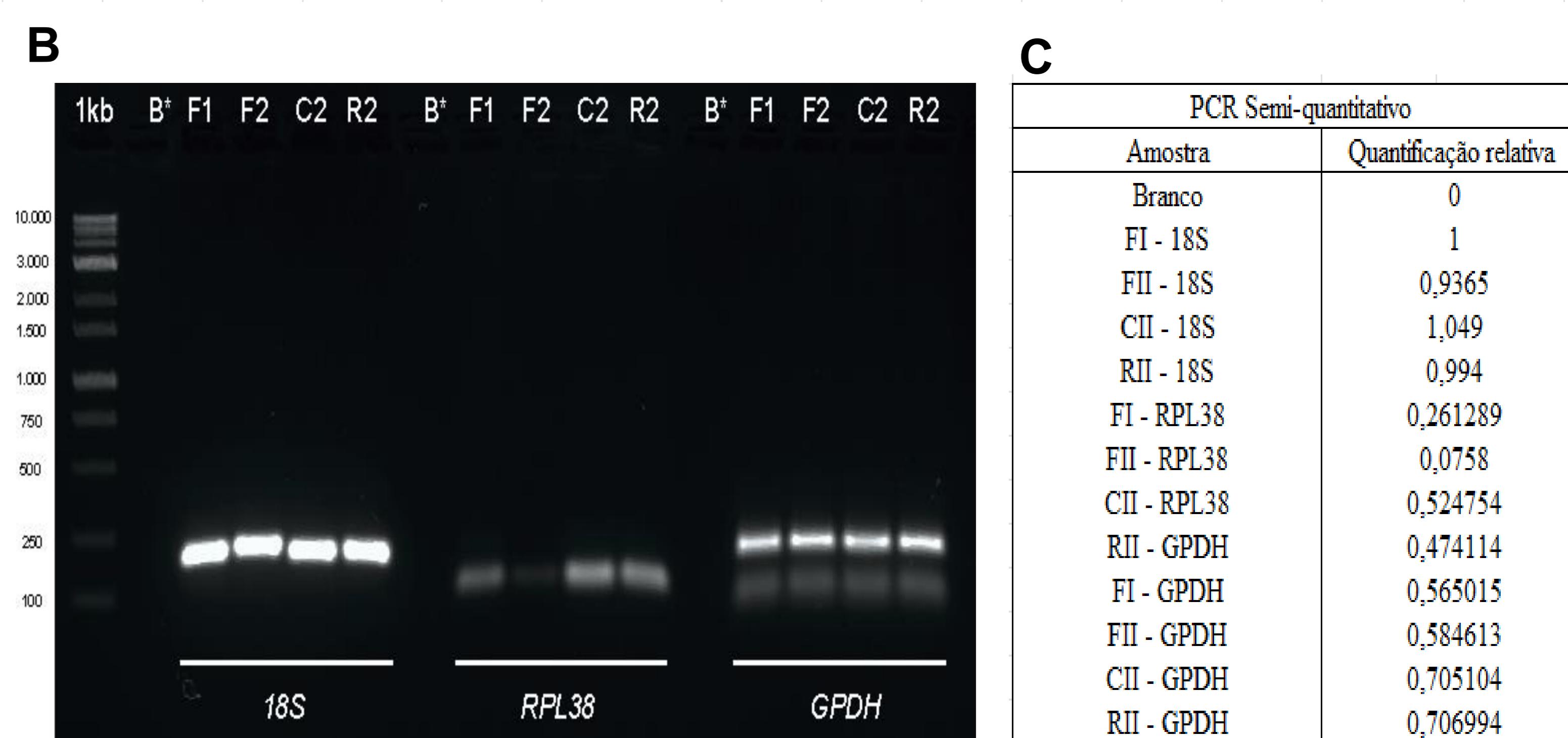


Figura 1. Quantificação do RNA (A) Eletroforese evidenciando os amplicons de cDNAs de normalizadores endógenos (genes 18S, RLP38 e GPDH) obtidos a partir da extração de RNA com as metodologias I e II (B) e quantificação relativa por PCR semi-quantitativa (C). B* = Branco; F1 = RNA de folha extraído com a metodologia I; F2 = RNA de folha extraído com a metodologia II; C2 = RNA de caule extraído com a metodologia II; R2 = RNA de raiz extraído com a metodologia II.

Conclusões

As duas metodologias foram eficazes para a extração de RNA íntegro. Vislumbra-se a aplicação dessas metodologias em futuras análises de expressão de genes associados à biossíntese de bixina.

Bibliografia

RODRIGUES, S.M. *et al.* (2007). Isolation and purification of RNA from tissues rich in polyphenols, polysaccharides, and pigments of annatto (*Bixa orellana* L.). *Molecular Biotechnology*, 37,(3): 220–224.