

RESUMO - ENTOMOLOGIA E ACAROLOGIA

**ANÁLISE COMPARATIVA DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE
RNA DO INTESTINO DE FÊMEAS INGURGITADAS DE RHIPICEPHALUS
MICROPLUS**

Liris Raphaella Turin De Moraes Maki (liristurin@ufrj.br)

Thalita Débora Hibner Silva Bureli (thalita.hibner@gmail.com)

Emily Mesquita Da Silva (emily_mesquita@hotmail.com)

Vinícius Teixeira De Souza (viniciusteixeira@ufrj.br)

Thaís Almeida Corrêa (thaisalmeida_tac@yahoo.com.br)

Joana Da Rocha Matos (joanapereira384@yahoo.com.br)

Vitória Borio (VICBORIO@HOTMAIL.COM)

Vânia Rita Elias Pinheiro Bittencourt (vaniabit@ufrj.br)

Isabele Da Costa Angelo (isabeleangelo@yahoo.com.br)

Patricia Golo (patriciagolo@gmail.com)

Rhipicephalus microplus, é um artrópode com hábitos hematófagos que causa grandes perdas à pecuária brasileira. Diante desse cenário, estudos envolvendo esse parasito são essenciais para descobertas de novas medidas de controle.

No presente estudo, comparou-se três diferentes metodologias de extração de RNA, com o objetivo de otimização da prática, tornando-a mais acessível diante dos altos valores agregados a prática, visando maior rendimento e qualidade do material genético. Fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* foram obtidas através de infestações artificiais e, posteriormente, dissecadas. Seus intestinos foram submersos em RNA later e armazenados em freezer -80°C para conservação do material para posteriores extrações. No protocolo A, o intestino foi macerado com pistilo seguido de homogeneização em vórtex, essa técnica foi repetida duas vezes para rompimento das células. Em seguida, utilizou-se kit comercial Qiagen® de acordo com o protocolo estabelecido pelo fabricante. No protocolo B, utilizou-se Trizol® para lise química, a maceração seguiu como no protocolo A, seguido de decantação em centrífuga refrigerada a 4°C (CR), adicionando-se 80µL de clorofórmio e a amostra foi homogeneizada em vórtex. O conteúdo foi novamente levado à CR e o sobrenadante foi transferido para microtubo contendo 200µL de isopropanol, homogenizado em vórtex e repousado em gelo por 30 minutos. Em seguida, a amostra foi levada à CR e o pellet resultante do processo foi lavado em etanol 70% e eluído em 20µL de água livre de RNase. Já o protocolo C, seguiu o mesmo processo do protocolo B, mas acrescido de duas etapas de clorofórmio e três lavagens com etanol 70%. O RNA extraído foi quantificado em espectrofotômetro Nanodrop® seguido de eletroforese a 180V por 16 minutos em gel de agarose 1% para avaliação de integridade do material e visualizado em luz ultravioleta. A quantificação por espectrofotometria (Nanodrop®) revelou concentrações médias de RNA de 394,7±202,6 ng/µL para o grupo A; 1026±1131 ng/µL para o grupo B; 424,3±208,4 ng/µL para o grupo C. Quanto à pureza das amostras, as razões A260/A280 foram 2,204 (A), 1,872 (B) e 1,992 (C), enquanto as razões A260/A230 foram 1,832, 0,833 e 2,330, respectivamente. Baseado nestes parâmetros, o grupo que obteve os melhores resultados em relação a pureza e concentração de RNA foi o grupo C. Apesar do protocolo exigir mais etapas de precipitação e lavagem de RNA, aumentando o tempo de extração, trata-se de uma metodologia que exige menor recurso financeiro, devido à ausência de kits comerciais, que aumentam o valor da extração.

Palavras-chave: biologia molecular; carrapatos; controle biológico.

