

OTIMIZAÇÃO DE PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DE RNA VEGETAL: SUBSTITUIÇÃO DO NITROGÊNIO LÍQUIDO POR DISRUPTOR MECÂNICO**Jéssica N. dos Santos^{1*}, Janaína F. Gonçalves², Tamires S. Gonçalves³, Marcelo L. de Laia⁴**¹ UFVJM, Departamento de Engenharia Florestal, Diamantina, Minas Gerais, Brasil, 39100000.² UFVJM, Departamento de Engenharia Florestal, Diamantina, Minas Gerais, Brasil, 39100000.³ UFVJM, Departamento de Engenharia Florestal, Diamantina, Minas Gerais, Brasil, 39100000.⁴ UFVJM, Departamento de Engenharia Florestal, Diamantina, Minas Gerais, Brasil, 39100000.***e-mail:** jessica.naiara@ufvjm.edu.br

As células vegetais possuem uma parede lignocelulósica que envolve a membrana plasmática. Para a extração de ácidos nucleicos (DNA e RNA), que estão no núcleo da célula, faz-se necessário o rompimento dessa parede rígida. Tradicionalmente, utiliza-se força mecânica sob baixa temperatura para a quebra das fibras lignocelulósicas. O nitrogênio líquido é utilizado para baixar a temperatura e propiciar o rompimento da parede sem afetar os demais constituintes da célula. Todavia, a obtenção de N₂ líquido é um processo oneroso e, muitas vezes, muito difícil de ser obtido em locais distantes dos grandes centros. Uma alternativa é o uso de técnicas mecânicas sem a necessidade de N₂, como os disruptores mecânicos. Mas, nem todo tecido é suscetível a extração de RNA sem o uso de N₂, dado que esta molécula é muito instável, de fácil degradação. Logo, o protocolo deve ser padronizado, em termos de tempo de ruptura, força aplicada, número e tamanho das esferas e reagentes utilizados. Um tempo de processamento mais longo e um maior número de esferas tendem a aumentar a eficácia na quebra da parede celular, resultando em maior rendimento de RNA. No entanto, tais variáveis precisam ser cuidadosamente equilibradas para evitar a degradação do ácido ribonucleico. Este estudo avaliou a eficácia da substituição do nitrogênio líquido por um disruptor mecânico no protocolo "PureLink™ Plant RNA Reagent". Variáveis como tempo de agitação e número de beads foram otimizadas. O uso de 2 beads médias de zircônio com 2 ciclos de 30 segundos na velocidade máxima do Mini-Bead Beater da Biospec proporcionou melhores resultados. O protocolo ajustado mostrou-se eficaz na extração de RNA de alta qualidade, comparável ao método tradicional com nitrogênio líquido, além de reduzir os riscos associados ao uso de criogênicos e simplificar o processo de extração. O RNA extraído apresentou integridade e pureza adequadas para aplicações subsequentes, como RT-qPCR e sequenciamento (RNA-Seq), tornando essa abordagem uma alternativa segura e eficiente para laboratórios.

Agradecimentos: SUZANO S/A, CNPq, UFVJM.