

SALÃO DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA
XXIX SIC

UFRGS
PROPESQ



múltipla 
UNIVERSIDADE
inovadora  inspiradora

Evento	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2017
Local	Campus do Vale
Título	EXTRAÇÃO DE RNA DE AMOSTRAS CLÍNICAS DE DENTINA CARIADA
Autor	ARIEL GOULART RUP
Orientador	MARISA MALTZ TURKIENICZ

EXTRAÇÃO DE RNA DE AMOSTRAS CLÍNICAS DE DENTINA CARIADA
RUP, A.G¹; CORRALO, D.J²; PAROLO, C.C.F¹; DO, T³; CARDOSO, A.C¹; MALTZ, M¹.

¹ Faculdade de Odontologia – UFRGS/ ² Faculdade de Odontologia – UPF/ ³ School of Dentistry – University of Leeds, Reino Unido

O estudo da expressão gênica de micro-organismos remanescente após a remoção da dentina cariada em um tratamento restaurador permite compreender as modificações nas interações entre a comunidade microbiana relacionadas a este tratamento. O objetivo deste estudo foi avaliar as modificações na composição e na expressão gênica da microbiota metabolicamente ativa da dentina em lesões de cárie, antes e depois de dois tipos de tratamentos: convencional - com remoção total da dentina cariada (grupo controle - RT) - *versus* conservador - com remoção parcial da dentina cariada (grupo teste - RP). Foi realizado um ensaio clínico durante o período de abril de 2015 a outubro de 2016, foram selecionados pacientes atendidos nas Clínicas da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e da Universidade de Passo Fundo (UPF) (RS/Brasil) apresentando lesão de cárie ativa, localizada no terço médio da dentina, com indicação restauradora, em dentes permanentes, molares e pré-molares. Foram incluídos no estudo 62 pacientes (81 dentes; RP n=41 dentes, 36 indivíduos; RT n=40 dentes, 25 indivíduos). No grupo RP foram coletadas duas amostras de dentina, inicial: após a RP; e, final: após seis meses de selamento da cavidade. No grupo RT foi coletada amostra após a remoção total da dentina cariada realizada em uma única sessão. As amostras de dentina coletadas foram armazenadas em microtubos contendo 1mL de solução estabilizadora do RNA, mantido a temperatura ambiente por um período máximo de 48 horas. Os microtubos foram centrifugados a 10.000rpm durante um minuto e o *pellet* armazenado a -80°C. Foi extraído o RNA microbiano e realizado o preparo das bibliotecas genômicas para o sequenciamento por NGS (*Next Generation Sequencing*) (sequenciador Illumina HiSeq3000). Das 41 amostras iniciais do grupo teste (RP) foi possível extrair na média 7,42(±11,35)ngRNA/100µL e nas amostras finais 14,76(±21,89)ngRNA/100µL. Enquanto nas amostras do grupo controle (RT) a média de extração foi de 7,14(±16,68)ng/100µl de RNA. Para a obtenção de bibliotecas genômicas com qualidade para sequenciamento o total do RNA da amostra deve ser aproximado ou superior a 50 ngRNA/100uL. Dessa forma, foi necessário o agrupamento de várias amostras de dentina em *pools*, conformando 4 *pools* das amostras iniciais do RP com concentrações totais, respectivamente, de 73,91/55,86/87,85/48,42/ngRNA/100µl; 4 *pools* das amostras finais do RP, com concentrações totais, respectivamente, de 118,56/167,89/110,28/41,18ngRNA/100µl; e, 3 *pools* do grupo RT com concentrações totais de 81,84/139,32/81,78ngRNA. Após a validação da qualidade das bibliotecas genômicas com Agilent D1000 ScreenTape®, destes apenas um *pool* do momento inicial do grupo RP e um *pool* do grupo RT produziram biblioteca genômica com qualidade mínima para sequenciamento (fragmentos de RNA com 269 pares de bases). As quantidades de RNA recuperadas das amostras de dentina se apresentam muito reduzidas. É preciso avaliar novos métodos de extração de RNA em amostras clínicas de dentina que permitam produção de bibliotecas genômicas passíveis de sequenciamento.

Financiamento: FAPERGS (2032-2551/13-1) / CNPq (482504/2013-7)