

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 | ELABORAÇÃO E VALIDAÇÃO DE PROTOCOLO PARA EXTRAÇÃO DE RNA A PARTIR DE CÉLULAS ESPERMÁTICAS BOVINAS |
| Autor | LUCAS DOS SANTOS DA SILVA |
| Orientador | VINICIUS FARIAS CAMPOS |

ELABORAÇÃO E VALIDAÇÃO DE PROTOCOLO PARA EXTRAÇÃO DE RNA A PARTIR DE CÉLULAS ESPERMÁTICAS BOVINAS

*SILVA, Lucas; CAMPOS, Vinicius (orientador)

*Lucas dos Santos da Silva: lucassantos_17@hotmail.com

Universidade Federal de Pelotas, Laboratório de Genômica Estrutural, prédio 20,
Campus Universitário, S/N - CEP 96160-000, Capão do Leão, RS – Brasil

O genoma de eucariotos é capaz de produzir RNAs não codificantes (ncRNAs) para síntese proteica, a partir de RNAs mensageiros (mRNA). Dentre as classes de ncRNAs, os microRNAs (miRNAs) são caracterizados por serem moléculas pequenas que apresentam função de regulação pós-transcricional da expressão gênica, seja pela degradação ou pelo bloqueio na tradução do seu mRNA alvo. Em células espermáticas bovinas há uma grande variedade de miRNAs, sendo que a expressão diferencial de alguns desses transcritos está associada com a fertilidade de touros, sugerindo que os miRNAs influenciam o potencial de fertilização desses animais (GOVINDARAJU et al., 2012). Buscando subsidiar futuros estudos sobre o papel dos miRNAs e seus genes alvo sobre a qualidade espermática em bovinos, o presente trabalho teve por objetivos, a padronização de um protocolo de extração de RNA total a partir de células espermáticas bovinas e a validação da eficiência do mesmo através da análise da expressão gênica pelo método de Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR). Para dar início a extração de RNA foram divididos grupos experimentais: Grupo 1 contendo 2×10^6 ; Grupo 2 contendo 5×10^6 ; Grupo 3 com 10×10^6 ; e Grupo 4 contendo 20×10^6 de células espermáticas. Logo após, as amostras foram submetidas ao reagente TRIzol[®], e em seguida, o RNA foi lavado através de centrifugação e eluído em coluna com membrana de sílica presente no *kit* comercial utilizado. Ao final do processo, as amostras de RNA foram quantificadas por fluorimetria. Após, foi realizada a confecção de DNA complementar (cDNA) utilizando um *kit* comercial, e a avaliação da expressão do gene da GAPDH por meio do método de RT-qPCR, para a validação da eficiência do protocolo proposto no presente estudo. Com o protocolo de extração utilizado, foi obtida uma quantidade de RNA detectável por fluorimetria somente no grupo experimental 4, no qual foram utilizadas 20×10^6 de células espermáticas. Reações de RT-qPCR foram realizadas para verificação da possibilidade de utilização do RNA extraído, onde as amplificações do gene da GAPDH foram bem sucedidas. A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que é possível realizar extração de RNA total a partir de uma concentração espermática menor do que as já demonstradas na literatura. Além disso, validamos o protocolo aqui sugerido, uma vez que o mesmo mantém o RNA total íntegro e em concentrações suficientes para a realização de ensaios de análise de expressão gênica, podendo o mesmo ser utilizado nos experimentos vindouros envolvendo análise de miRNAs espermáticos relacionados à capacidade fertilizante dessas células. Temos como perspectiva a análise do efeito da eletroporação sobre a expressão de miRNAs espermáticos, buscando elucidar o impacto da internalização de DNA exógeno sobre a qualidade destas células.