



**Universidade:
presente!**

UFRGS
PROPEAQ



XXXI SIC

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

Evento	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Avaliação da eficiência de produção de clones bovinos a partir de células somáticas derivadas de amostras de sêmen criopreservado
Autor	VERÔNICA RAFAELA BENVENUTTI
Orientador	JOSE LUIZ RIGO RODRIGUES

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL – UFRGS
FACULDADE DE VETERINÁRIA
LABORATÓRIO DE EMBRIOLOGIA E BIOTÉCNICAS DE REPRODUÇÃO

Bolsista: Verônica Rafaela Benvenutti
Orientador: Prof. Dr. José Luiz Rodrigues

Avaliação da eficiência de produção de clones bovinos a partir de células somáticas derivadas de amostras de sêmen criopreservado

A clonagem por transferência nuclear de célula somática (TNCS) apresenta diversas aplicações científicas, entre as quais, destaca-se a preservação de animais de genética desejável, rara ou em extinção. Essa ferramenta de biotecnologia pode ser utilizada para geração de animais de importante impacto socioeconômico pecuário e também contribui com a preservação e recuperação de animais em risco de extinção ou já extintos, dos quais se disponha de sêmen congelado. O objetivo do experimento é determinar a eficiência da produção de embriões obtidos através da clonagem por TNCS pela técnica de *Handmade Cloning* (HMC), utilizando como doadoras de núcleo (carioplastos) células somáticas isoladas de amostras de sêmen bovino criopreservado (CSSs). Estudos nesta área revelam que a maioria dessas células é de origem epitelial, e sabe-se que esse tipo celular apresenta notáveis dificuldades para se multiplicarem no cultivo *in vitro* e também na etapa de fusão da membrana do carioplasto com a do citoplasto. Para a produção dos clones, é proposto o seguinte protocolo: a) aspiração folicular de ovários de vacas provindos de abatedouro, cujos complexos *cumulus*-oócito (CCOs) aspirados serão preparados para serem utilizados como citoplastos; b) os CCOs serão selecionados e submetidos à maturação *in vitro* (MIV) por período de 17 a 20 h, em incubadora a 37°C, expostos à atmosfera de 5% de CO₂ em ar e umidade saturada; c) após a maturação, os CCOs serão desnudados e será feita a observação e a identificação dos oócitos com corpúsculo polar (maturados); d) o isolamento das células somáticas de palhetas de sêmen bovino criopreservado será realizado com auxílio da técnica de *swim-up* modificada; e) a produção dos citoplastos, através da retirada da bagagem genética, por secção de aproximadamente ¼ do citoplasma dos oócitos, abrangendo a região à frente em que se encontra o corpúsculo polar; f) as membranas da célula somática e do citoplasto serão submetidas à eletrofusão; g) os embriões clones serão submetidos ao cultivo *in vitro* (CIV) em meio SOF, em incubadora a 37°C, expostos à atmosfera de 5% de O₂, 5% de CO₂ e 90% de N₂ com umidade saturada; h) a taxa de clivagem dos embriões será avaliada no Dia 2 do CIV e a taxa de desenvolvimento embrionário ao estágio de blastocisto no Dia 7 do CIV. Até o momento, os resultados obtidos foram o desenvolvimento de protocolo de isolamento das células somáticas do sêmen, replicado doze vezes e com obtenção de aproximadamente 2.000 CSSs por palheta de sêmen de 0,5 mL e a maturação dos oócitos, que alcançou uma taxa de maturação avaliada em 57,25% em cinco replicações. Ensaios realizados em nosso laboratório não obtiveram sucesso na fusão de membranas de CSSs e oócitos maturados bovinos. Alternativas para se obter sucesso na introdução do núcleo doador no citoplasma do oócito estão sendo desenvolvidas.