



Ciências Agrárias

USO DE SUBSTÂNCIAS DESESTABILIZADORAS DO CITOESQUELETO NA ENUCLEAÇÃO DE OÓCITOS BOVINOS MATURADOS NA PRESENÇA DE INIBIDOR DA PI3K

Laura Pereira Martins, Angelo José Burla Dias, Edgar Mauricio Mogollon Waltero, Laura Mathias Barroso, Janaina Leite Pereira

Os procedimentos convencionais para a produção de citoplastos (oócitos enucleados) utilizados para a produção de clones em bovinos exigem a exposição dos ovócitos maturados à luz ultravioleta (UV) para a visualização do material nuclear marcado por fluorocromos. A exposição à UV pode induzir alterações do DNA mitocondrial causando prejuízos aos citoplastos. A demecolcina (DM) e a citocalasina-B, substâncias desestabilizadoras dos microtúbulos e microfilamentos, facilitam a localização dos acúmulos de cromatina nuclear e do corpúsculo polar, pois promovem a formação de uma elevação na periferia do ovócito (cone de extrusão), resultante do acúmulo da cromatina neste local, o que permite a remoção do material nuclear sem o uso de marcações fluorescentes. Resultados prévios do nosso grupo têm demonstrado que a maturação dos ovócitos bovinos na presença de um inibidor da enzima fosfatidil-inositol 3 quinase (PI3K), o wortmannin, tem promovido uma melhora nos eventos citoplasmáticos relacionados com a movimentação de grânulos corticais, fato mediado por elementos do citoesqueleto. Desta forma, o objetivo do trabalho é avaliar o efeito da inibição da PI3K sobre a taxa de formação dos cones. Os complexos cumulus-oócito (CCOs), serão obtidos de ovários de vacas abatidas em matadouros. Após seleção, os CCOs serão transferidos para gotas de 100 µl de meio de maturação, sendo colocados em grupos de 20 e cobertos com óleo mineral numa placa de Petri, onde serão mantidos por 22 h, a 38,5 oC, com atmosfera de 5% de CO₂. Os CCOs serão distribuídos em dois grupos experimentais segundo o tratamento (controle e wortmannin). Após 20 horas de maturação será adicionado a esse meio uma solução de demecolcina e citocalasina-B, de modo a atingir uma concentração final de 0,5 µg/ml e 5mg/ml, respectivamente. Cada grupo será dividido em dois subgrupos dos quais um será tratado com demecolcina e citocalasina-B e o outro não. Os CCOs permanecerão nesse meio por mais duas horas nas mesmas condições de temperatura, atmosfera e umidade. Posteriormente será analisado ainda o efeito do tempo de exposição dos CCOs ao wortmannin durante a maturação in vitro (16h, 18h e 22h), sobre a taxa de formação dos cones. O projeto foi iniciado em fevereiro de 2013, encontrando-se em fase de treinamento das técnicas experimentais.

Palavras-chave: Clonagem, quinase, maturação in vitro

Instituição de fomento: FAPERJ/UENF