

SP 7132
2016
SP-PP-SP 7132

oocitária e com diferentes efeitos diante estímulos distintos. Mais estudos são necessários para compreensão completa da via GMPc na lipólise oocitária.

Palavras-chave: Criopreservação; GMPC; oócitos

SBTE 246 Biotecnologias de suporte: criopreservação, criobiologia, biologia molecular e “ômicas”
Número de submissão 1623

Administração de cloprostenol na primeira semana pós-parto não parece modificar a expressão de PTGFR no endométrio de vacas mestiças

Aline Sousa Camargos¹; Sabine Wohles-Viana²; Isadora Frazon Costa³; Luiz Sérgio de Almeida Camargo²; João C.P. Ferreira³; Alcides Amorim Ramos⁴; Eunice Oba³

1.IF Goiano Campus Morrinhos, Morrinhos, GO, Brasil; 2.Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil; 3.DRARV FMVZ UNESP, Botucatu, SP, Brasil; 4.FMVZ UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

Este estudo investigou se a administração pós-parto de prostaglandina sintética, cloprostenol, a vacas mestiças afeta a expressão de receptores PGF2α no útero. O estudo foi conduzido na fazenda Santa Fé, Brasil. Oito vacas Holstein-Zebu paridas, saudáveis, com condição corporal entre 3,5 and 4 (0-5 na escala), foram utilizadas. Todas as vacas apresentaram parto normal sem retenção de placenta. Após o parto (D0), as vacas foram aleatoriamente divididas em um de dois tratamentos. Controle: 2 mL de salina i.m. (n=4) ou CLO: 530 µg de cloprostenol (n= 4) no D2 e D5 pós-parto. Foram coletadas biópsias endometriais aos D2, D7 e D14, utilizando uma agulha de biópsia Yomann (Hauptner®, Solingen, Alemanha). As amostras endometriais foram lavadas em PBS (LGC Biotecnology, SP, Brasil), colocadas em micro tubos contendo RNA later® (Life Technologies, CA, USA), estocadas a 5°C por 24 h e após -80°C. A extração do RNA total foi realizada com o RNEasy Mini Kit (Qiagen, Hilden, Alemanha), de acordo com as instruções do fabricante, e tratadas com DNase. O RNA foi quantificado no espectrofotômetro (ND-100 Nanodrop, Wilmington, USA). A transcrição reversa foi realizada com Superscript III First-Strand Synthesis Supermix kit (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), de acordo com as especificações do fabricante. A quantificação relativa dos transcritos do receptor de PGF2α (PTGFR) foi realizada utilizando-se ACTB e GAPDH como genes de referência. PCR em tempo real foi realizado utilizando-se o Master Mix kit Power SYBR Green (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), de acordo com as instruções do fabricante. Os dados foram analisados por GLM ANOVA, utilizando o pacote SAS (v. 9.2, SAS Institute, Cary, USA). Fontes de variação foram os tratamentos (CONT e CLO); dias (2, 7 e 14); e interação tratamento vs dia. Médias da expressão relative dos genes foram contrastadas pelo teste SNK. A expressão do PTGFR foi similar entre os tratamentos (P > 0,05) em todos os dias pós-parto avaliados. Entretanto, notamos uma diminuição consistente da expressão do PTGFR entre dia 2 e 14 para ambos os grupos, apesar de não haver diferenças entre os dias pós-parto. Esta diminuição poderia sinalizar que o efeito sinalizador da PGF2α é reduzido ao longo do pós-parto devido à baixa expressão do seu receptor. A ausência de efeito de cloprostenol na expressão endometrial de PTGFR em vacas mestiças Holstein-Zebu contrasta com os achados em Nellore, onde maior exoressão de PTGFR foi detectado no endométrio no dia 14 pós-parto em vacas injetadas com clorostenol nos dias 1 e 4 of pós-parto (Moraes, Theriogenology, 83, 276, 2015). Estes achados contrastantes podem ser devidos a diferenças fisiológicas no puerpério entre vacas leiteiras e de corte (Carthy, Animal, 8, 675, 2014). Em conclusão, administração de cloprostenol nos dias 2 e 5 pós-parto não modifica a expressão de PTGR no endométrio de vacas Holstein-Zebu. Agradecimentos à FAPESP pelo suporte financeiro e CAPES pela bolsa

Palavras-chave: Prostaglandina; bovino; utero

SBTE 247 Biotecnologias de suporte: criopreservação, criobiologia, biologia molecular e “ômicas”
Número de submissão 1648

A cinética das primeiras clivagens influencia o padrão de metilação de DNA de embriões bovinos

Jéssica Ispada¹; Kelly Annes²; Camila Bruna de Lima¹; Roberta Ferreira Leite²; Marc-André Sirard³; Marcella Pecora Milazzotto²

1.Univeridade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; 2.Univeridade Federal do ABC, Santo André, SP, Brasil; 3.Universite Laval, Quebec, Canadá.

A metilação do DNA é um mecanismo de controle epigenético essencial durante o desenvolvimento embrionário, direcionando a diferenciação das futuras linhagens celulares e prevenindo a regressão ao estado indiferenciado. Baseando-se no fato de que embriões com cinética de desenvolvimento diferentes apresentam divergências em relação à expressão gênica, este estudo visou caracterizar as disparidades entre embriões de desenvolvimento rápido e lento em relação ao status de metilação global do DNA. Para isto, CCOs provenientes de ovários de abatedouro foram submetidos a MIV por 22-24h, FIV utilizando sêmen sexado (fêmeas) por 18h e CIV por 7 dias. Após 40h da inseminação os embriões foram classificados como Rápidos (4 ou mais células) ou Lentos (2 ou 3 células), permanecendo em cultura até o estágio de blastocisto (40 blastocistos por grupo obtidos em 4 replicatas). Estes embriões foram analisados através do EmbryoGENE Methylation DNA Array (EDMA). Resumidamente, o DNA extraído foi fragmentado com a enzima de restrição MseI e os fragmentos foram extraídos utilizando digestão sensível à metilações e amplificação mediada por ligação em PCR (LMA-PCR). A hibridização foi realizada de acordo com o fabricante (Agilent Technologies). Foram consideradas como regiões

SP7 132