

GENOMIC IMPRINTING E SUAS IMPLICAÇÕES EM PRODUÇÃO ANIMAL

Simone Cristina Méo

Embrapa Pecuária Sudeste, Rodovia Washington Luiz, km 234, CEP 13560-970,
São Carlos, SP, Brasil. simone@cppse.embrapa.br

Introdução

O embrião mamífero diplóide ($2n$) é formado pela fusão do gameta ($1n$) masculino (espermatozóide) e do gameta feminino (oócito). Uma vez que cada um dos genitores fornece para seu descendente um gameta, ou seja, um conjunto haplóide de cromossomos, parecia óbvio supor que a contribuição genética transmitida por ambos os pais deveria ser idêntica (Watson et al., 1992). Entretanto, para alguns genes, isso não é observado.

Estudos em camundongos transgênicos demonstraram a ocorrência de distúrbio de desenvolvimento quando o alelo paterno do gene do fator de crescimento semelhante à insulina do tipo 2 (*Igf2*) foi inativado por mutação, enquanto animais portadores da inativação do alelo materno se desenvolveram normalmente. Disso concluiu-se que, enquanto o gene *Igf2* de origem paterna é transcrito, o de origem materna permanece silencioso (Alberts et al., 1994). De maneira semelhante, foi observado que embriões de camundongos formados exclusivamente por genoma de origem materna (ginogenéticos ou partenogenéticos) ou paterna (androgenéticos), produzidos por transferência de pronúcleo ou por ativação partenogenética (McGrath & Solter, 1984; Solter, 1988), morrem logo após a implantação. Assim, para a embriogênese ser completa, o zigoto deve conter ambos os genomas parentais.

Essas evidências despertaram a curiosidade de diversos pesquisadores que buscaram entender a maneira pela qual a expressão de alguns genes é controlada por sua origem (materna ou paterna) e os mecanismos e as implicações desse evento, o que levou à descoberta de vários genes com expressão dependente da origem parental. O “silêncio” de um gene dependente de sua origem foi denominado de *genomic imprinting* – impressão genômica (Kendrew, 1994). O estudo do *imprinting* permite a compreensão de certas doenças humanas, de mecanismos de

formação de tumores e de eventos do desenvolvimento e do crescimento em mamíferos, além de ser uma possível ferramenta para a seleção animal e de fornecer subsídios para o controle de falhas que ocorrem nas biotecnologias com embriões.

Definição

O evento no qual a expressão de um gene depende de sua origem (materna ou paterna) é denominado de *genomic imprinting* (Watson et al., 1992; Alberts et al., 1994; Jaenisch, 1997). Assim, a atividade de um gene *imprinted* em cada indivíduo depende do sexo do progenitor do qual o alelo foi herdado (Watson et al., 1992), de maneira que alguns genes são expressos somente com base nos alelos maternos e outros somente pelos paternos (Kendrew, 1994).

O *imprinting* é uma modificação epigenética (informação diferente daquela codificada pela seqüência de nucleotídeos, isto é, a informação citoplasmática), que altera o fenótipo sem modificar o genótipo, é introduzida nos cromossomos, é replicada estavelmente durante as divisões celulares e é reversível (Kendrew, 1994).

O *genomic imprinting* ocorre em genes autossômicos de mamíferos eutérios (que possuem placenta verdadeira) e leva a desvios da herança mendeliana (Ruvinsky, 1999). Em plantas angiospérmicas, em marsupiais e em insetos já foi descrito fenômeno epigenético semelhante ao *genomic imprinting* (Toder et al., 1996; Spielman et al., 2001; Lize et al., 2007). Os genes *imprinted* possuem algumas características em comum: estão dispostos em grupos (o que indica que podem sofrer interação) e apresentam assincronia na replicação do DNA, seqüências repetitivas e poucos e pequenos íntrons. A maioria dos genes *imprinted* codifica proteínas, mas alguns genes codificam RNA, que não é transcrito, como o *H19* (Sasaki et al., 1995; RUVINSKY, 1999; YOUNG & FAIRBURN, 2000). O *imprinting* dos genes é específico para tecidos e para estádios do desenvolvimento e nem todos os genes que são *imprinted* em uma espécie o são em outra, o que indica aquisição evolutiva (Ruvinsky, 1999).

Hipóteses que explicam a ocorrência de *imprinting*

Há várias hipóteses que tentam explicar a ocorrência de *imprinting* e as suas conseqüências. Uma teoria baseia-se na idéia do “conflito genético” entre os genes

maternos e os genes paternos durante a gestação, também conhecida como “batalha dos sexos”. Uma vez que os fetos de mamíferos são nutridos diretamente pelos tecidos maternos, para os alelos de origem paterna seria vantajoso promover maior crescimento do feto, de modo a aumentar suas chances de espalhar descendentes pela população, enquanto os alelos maternos deveriam evitar a sobrecarga da mãe e favorecer a manutenção de fetos pequenos para assegurar o sucesso do parto e das futuras gestações. Assim, o *imprinting* seria um compromisso entre mãe e feto e entre genes maternos e paternos (Kendrew, 1994; Ruvinsky, 1999). Essa teoria prediz o comportamento dos genes *Igf2* e do receptor do fator de crescimento semelhante à insulina do tipo 2 (*Igf2r*) com muita acurácia: a maior expressão do gene que codifica a proteína IGF-II (gene *Igf2*) pode aumentar o tamanho do feto e, por isso, está sob controle paterno, enquanto o gene que codifica o receptor (*Igf2r*), que se liga ao IGF-II e diminui sua disponibilidade, está sob controle materno (Kendrew, 1994). Entretanto, essa teoria não explica a ocorrência de *imprinting* em diversos outros genes.

A teoria do “modelo de desenvolvimento” sugere que o *imprinting* seria uma aquisição evolutiva e ocorreria em resposta à pressão ambiental, induzindo a rápidas mudanças de expressão ou à inativação dos alelos parentais de acordo com a necessidade (Beaudet & Jiang, 2002). Entretanto, essa maior capacidade de adaptação é controversa, uma vez que a diploidia, ao contrário do *imprinting* (que se assemelha à haploidia), protege contra mutações recessivas deletérias (Wolf & Hager, 2006).

Há também a hipótese do “ovário bomba-relógio”, na qual o *imprinting* evitaria a partenogênese e dessa forma asseguraria a variabilidade genética e protegeria a mãe contra doenças malignas do trofoblasto (Varmuza & Mann, 1994; Hagemann et al., 1998). Apesar de não ocorrer naturalmente em mamíferos, a partenogênese (ou reprodução assexuada) já foi descrita em cerca de 70 espécies de vertebrados, tais como cobras e lagartos, dentre esses o dragão-de-comodo, o que traz preocupações a respeito da diminuição da variabilidade genética e do aumento dos riscos de extinção da espécie (Watts et al., 2006). Um fato interessante é que nas espécies de lagarto, em que a fêmea é o sexo heterogamético (possui os cromossomos Z e W), o desenvolvimento partenogenético do gameta feminino (sem a contribuição do gameta masculino) produzirá somente machos ZZ e WW (Watts et al., 2006).

Além disso, o *imprinting* permitiria a vigilância contra a perda de cromossomos, de modo a prevenir o câncer e defender o organismo contra a invasão de DNA estranho (Jaenisch, 1997).

Principais genes *imprinted* descritos e suas funções

No genoma, estima-se a existência de 100 a 1000 genes *imprinted* (Young & Fairburn, 2000). Segundo o catálogo *on-line* de genes *imprinted* (IMPRINTED, 2007), já foram descritos 51 genes *imprinted* em humanos e 82 em camundongos. Entretanto, para os animais de produção, esse número é bem menor: sete em bovinos (*GTL2*, *IGF2*, *IGF2R*, *NESP55*, *NNAT*, *PEG3* e *XIST*), dez em ovinos (*DAT*, *DLK1*, *GTL2*, *H19*, *IGF2*, *IGF2R*, *MEG8*, *MEST*, *PEG11* e *PEG11-AS*) e cinco em suínos (*IGF2*, *IGF2-AS*, *IGF2R*, *PEG10* e *PLAGL1*)¹.

Os genes *imprinted* representam menos de 0,1% dos genes em todo o genoma, mas possuem funções determinantes em vários processos. Dentre essas funções, destacam-se a regulação do crescimento fetal, por *IGF2*, *IGF2R* e *H19* (Watson et al., 1992; Kendrew, 1994; Sasaki et al., 1995; Dean et al., 1998); o suprimento sanguíneo e a formação da placenta, por *IGF2R*, *INS2* e *MASH2* (Loi et al., 1998; Tanaka et al., 1999; Young & Fairburn, 2000); a inativação do cromossomo X, pelo *XIST* (Young & Fairburn, 2000); o comportamento materno, pelo *Mest* (Lefebvre et al., 1998); e a aprendizagem, pelo *Xrl3b* (Davies et al., 2005).

Em camundongos, os genes de origem materna contribuem para o desenvolvimento do embrião propriamente dito, principalmente das estruturas axiais (cérebro, tubo neural e somitos), dos órgãos (rim e baço) e do endoderma do saco vitelino, enquanto os genes de origem paterna participam no desenvolvimento dos tecidos extra-embrionários, especialmente do trofoblasto (Cruz & Pedersen, 1991; Kendrew, 1994; Kono, 1998). Dessa maneira, os embriões monoparentais (androgenéticos ou partenogéticos) são incapazes de levar a gestação a termo e

¹ *GTL2*: "Gene trap locus 2" (expressão materna); *IGF2*: "insulin-like growth factor 2" (expressão paterna); *IGF2R*: "insulin-like growth factor 2 receptor" (expressão materna); *NESP55*: "neuroendocrine secretory protein" (expressão materna); *NNAT*: "neuronatin" (expressão paterna); *PEG3*: "paternally expressed gene 3" (expressão paterna); *XIST*: "X (inactive)-specific transcript" (expressão paterna); *DAT*: "DLK1-associated transcripts" (expressão paterna); *DLK1*: "Delta-like 1" (expressão paterna); *H19*: "H19 gene" (expressão materna); *MEG8*: "maternally expressed gene 8" (expressão materna); *MEST*: "Mesoderm-specific transcript" (expressão paterna); *PEG11*: "paternally expressed gene 11" (expressão paterna); *PEG11-AS*: "antisense transcript from PEG11" (expressão materna); *IGF2-AS*: "IGF2-antisense" (expressão paterna); *PEG10*: "paternally expressed gene 10" (expressão paterna); *PLAGL1*: "pleiomorphic adenoma gene-like 1" (expressão paterna).

morrem durante a fase inicial do desenvolvimento intra-uterino. Entretanto, estudos demonstraram que a manipulação do genoma de embriões partenogênicos, a qual levou ao aumento da expressão do *Igf2* e à expressão monoalélica do *H19*, normalizou a expressão de 32 outros genes *imprinted* e possibilitou o nascimento de um camundongo partenogênico (Kono et al., 2004). Isso demonstra a intensa interação existente entre genes *imprinted*.

Esse estudo não foi repetido em outras espécies animais. Assim, em bovinos e ovinos, apesar de os genes de origem materna serem capazes de estabelecer o tamanho adequado das membranas extra-embrionárias (Hagemann et al., 1998; Méo-Niciura, 2005), os embriões partenogênicos morrem na fase em que o desenvolvimento da placenta é crítico para a implantação (Hagemann et al., 1998).

Mecanismos de estabelecimento de *imprints*

Assim como a metilação do DNA participa na inativação do cromossomo X e na expressão de genes tecido-específicos (Young & Fairburn, 2000), acredita-se que a metilação da citosina em sítios de CpG (resíduos de citosina adjacentes a guanina, com mais de 50% de CG – ilhas de CpG) participe no *imprinting* (Alberts et al., 1994; Ruvinsky, 1999). A metilação, que ocorre na posição 5 do anel pirimídico da citosina, transformando-a em 5-metil-citosina, é estabelecida pelas DNA-metiltransferases (Dnmts). As Dnmts são compostas por várias famílias, com diferentes funções: as Dnmt1 são metiltransferases de manutenção (ex.: a Dnmt1 mantém a metilação dos *imprints* durante o desenvolvimento) e as Dnmt3 são “de novo” metiltransferases (ex.: a Dnmt3a promove a metilação na linhagem germinativa e a Dnmt3L regula o estabelecimento do *imprinting*). Camundongos sem o gene *Dnmt* não mantêm a metilase ativa e morrem enquanto ainda estão na fase embrionária, devido ao *imprinting* incorreto (como o observado no gene *Igf2*) ou devido à falha na metilação de diversos genes que dão suporte ao desenvolvimento, com conseqüentes erros na transcrição (Alberts et al., 1994; Lei et al., 1996).

As ilhas de CpG reguladas por metilação de DNA alelo-específica constituem as regiões diferencialmente metiladas (DMRs) que controlam o *imprinting* e, por isso, são chamadas de *imprinting control regions* (Feil & Berger, 2007). A metilação do DNA na região promotora de genes está associada, na maioria dos casos, à inibição da transcrição e ao silenciamento gênico.

Nos genes *imprinted*, para que o padrão de metilação seja transmitido aos descendentes, é necessário que ele já seja estabelecido nos gametas, durante a gametogênese, que é a única fase em que os genomas de origem materna e paterna estão fisicamente separados (Sasaki et al., 1995). Da mesma forma, é essencial que todos os *imprints* herdados do espermatozóide e do oócito sejam “apagados” nas células germinativas do embrião recém-formado, para que o indivíduo produza gametas somente com os padrões de *imprints* relativos ao seu sexo. Portanto, os *imprints* desaparecem nas células germinativas primordiais (Young & Fairburn, 2000) e voltam a aparecer durante a gametogênese, nos gametas maduros (Ruvinsky, 1999).

Durante o desenvolvimento do conceito, há desmetilação global do genoma, logo após a fecundação, e o restabelecimento do padrão de metilação acontece no estágio de blastocisto, em camundongos, ou no estágio de 8 a 16 células, em bovinos (Reik et al., 2001; Mann & Bartolomei, 2002). Entretanto, os genes *imprinted* resistem a essa onda de desmetilação global (Jaenisch, 1997; Ruvinsky, 1999).

Além da metilação do DNA, a estrutura da cromatina, a acetilação, a fosforilação e a metilação das histonas associadas à cromatina e a expressão de transcrito *antisense* e de RNA não-codificante (incluindo microRNA) também constituem mecanismos de controle de *imprinting* (Kendrew, 1994; Ruvinsky, 1999; Young & Fairburn, 2000; Spahn & Barlow, 2003). Por um lado, a cromatina muito condensada (devido à metilação ou à fosforilação) promove restrição à atividade gênica. Por outro lado, a cromatina menos condensada (ou mais aberta; devido à acetilação) cria ambiente mais permissivo para a ativação gênica (Jirtle & Weidman, 2007). Sugere-se que a metilação de DNA esteja associada mecanicamente à modificação da histona: a metilação em CpG recruta outras proteínas que se ligam ao DNA e atraem enzimas que removem o grupo acetil das histonas, condensando a cromatina e limitando a transcrição (Jirtle & Weidman, 2007). Assim, o controle do *imprinting* pode ocorrer por mais de um mecanismo.

Implicações do *genomic imprinting*

a) Para o crescimento e o desenvolvimento:

Em humanos, a alteração em genes *imprinted* desencadeia diversas patologias. A dissomia uniparental do cromossomo 15q11-13, quando de origem

materna, provoca a síndrome de Prader Willi e, quando de origem paterna, a síndrome de Angelman. A dissomia ou a trissomia parcial do cromossomo 11p15.5 de origem paterna desencadeia a síndrome de Beckwith-Wiedemann, que provoca supercrescimento fetal, provavelmente devido à expressão excessiva do *Igf2*. O aumento ou a diminuição da expressão de genes *imprinted* pode contribuir em alguns casos de câncer, como o tumor de Wilms e o rabdomiossarcoma provocados por dissomia paterna do cromossomo 11p. É ignorado se a carcinogênese é afetada pela superexpressão de fatores de crescimento *imprinted* ou pela inativação epigenética de genes supressores de tumor (Kendrew, 1994).

Outro caso de patologia provocada por *imprinting* é a doença de Huntington, que é letal no adulto e cuja idade de aparecimento dos sintomas varia, mas é mais precoce em filhos de pai afetado pela doença. A diabetes melito dependente de insulina (diabetes juvenil) é menos transmitida aos descendentes de mulheres afetadas do que aos de homens afetados pela doença (Solter, 1988). Nas fêmeas com síndrome de Turner (X0), o fenótipo cognitivo e o fenótipo social dependem de qual X está presente (de origem paterna ou materna). Efeitos de origem parental também ocorrem em outras condições neuro comportamentais, como autismo, doença de Alzheimer, desordem bipolar e esquizofrenia (Jirtle & Weidman, 2007).

b) Nas biotecnologias com embriões:

O cultivo *in vitro* e outras manipulações de embriões, no momento em que os *imprints* são estabelecidos ou mantidos, são candidatos em potencial à indução de erros que podem levar a anomalias e a contribuir para a baixa eficiência observada em muitos desses procedimentos.

Os componentes do meio de cultivo podem interagir com os genes *imprinted* e provocar modificações epigenéticas, como a remoção de metilações. Oócitos coletados para a produção de embriões podem ser oriundos de folículos imaturos ou atresicos e que, normalmente, não ovulariam e poderiam apresentar defeitos de *imprinting* (Young & Fairburn, 2000).

Em humanos, as tecnologias de reprodução assistida, tais como a injeção espermática intracitoplasmática e a fecundação *in vitro*, aumentam a incidência de patologias relacionadas às falhas de *imprinting* (Cox et al., 2002; DeBaun et al., 2003). Em camundongos, foi observada expressão anômala do gene *H19* após

intensa manipulação dos embriões (Sasaki et al., 1995). Em bovinos e ovinos produzidos *in vitro*, a síndrome do bezerro gigante pode ser causada por diversos genes *imprinted* com expressão alterada (Young & Fairburn, 2000).

O padrão de metilação dos genes é essencial para o sucesso dos programas de clonagem a partir de células somáticas. Os núcleos derivados de células somáticas possuem padrão específico de metilação, diferente daquele do embrião precoce. Dessa maneira, para que a clonagem tenha sucesso, o padrão somático de metilação deve ser apagado e transformado em embrionário (reprogramação nuclear), sem que os genes *imprinted* sejam alterados. Uma vez que isso nem sempre ocorre, defeitos no crescimento da placenta e falhas no suprimento sanguíneo são observados em clones de bovinos, tanto devido às alterações da metilação do DNA (Bourc'his et al., 2001; Dean et al., 2001; Kang et al., 2001; Cezar et al., 2003) como devido à expressão anormal de genes *imprinted* (Rideout III et al., 2001; Niemann et al., 2002; Zhang et al., 2004). Foi observada redução de expressão de *IGF2* e de *IGF2R* em fetos e em placentas de clones bovinos (Perecin, 2007) e de *H19* e de *IGF2* em placenta de clones bovinos a termo (Yamazaki, 2006). A redução da expressão do *H19* foi ainda mais marcante na placenta de clones fêmeas, o que sugere que o processo de reprogramação de alguns genes pode ser influenciado pelo sexo do concepto (Yamazaki, 2006).

c) Na produção animal:

É possível que o conhecimento do mecanismo (paterno ou materno) usado por um gene para entrar na próxima geração possa ser adotado em alguns programas de seleção animal (Ruvinsky, 1999).

Em suínos, a investigação do papel do *imprinting* na composição corporal identificou quatro *quantitative trait loci* (QTL) *imprinted* (iQTL): um de expressão paterna para espessura de toucinho no cromossomo 2; um de expressão materna para deposição de gordura no cromossomo 7; e um de expressão paterna e outro de expressão materna para gordura intramuscular no cromossomo 6 (Koning et al., 2000). Para características reprodutivas, foram encontrados iQTLs de expressão materna relacionados ao número de leitões natimortos no cromossomo 14 e ao número de fetos mumificados no cromossomo 2; e de expressão paterna relacionados à idade à puberdade no cromossomo 15, ao número de tetos nos cromossomos 1, 6 e 15, e ao número de fetos mumificados no cromossomo 6 (Holl et al., 2004). Por mapeamento fino, um iQTL, com efeito sobre massa muscular no cromossomo 2 suíno, foi mapeado em um segmento cromossômico de ~250 kb, o qual continha os genes de expressão paterna *INS* e *IGF2* (Nezer et al., 2003).

Diferenças na gestação de bardotos (jumenta x cavalo) e de mulas (égua x jumento) podem ser atribuídas ao *imprinting*, que influencia a produção do hormônio eCG (Ruvinsky, 1999).

Identificação de genes *imprinted*

Genes *imprinted* podem ser identificados pela utilização de animais portadores de dissomia uniparental ou de translocações cromossômicas; pela avaliação da expressão diferencial entre conceitos androgenéticos e partenogenéticos (por hibridização subtrativa ou *differential display*); e, também, pela avaliação de genes candidatos conhecida *imprinted* em outras espécies. Além disso, genes *imprinted* podem ser inferidos pela identificação de ilhas de CpG, com o auxílio de programas (<http://www.ebi.ac.uk/emboss/cpgplot/>), e de DMRs em genes candidatos. O estado de metilação das DMRs pode ser determinado por meio de digestão do DNA com enzimas de restrição sensíveis à metilação² ou por tratamento

² A digestão do DNA com enzima de restrição sensível à metilação (tais como *CfoI*, *HpaII*, *Maell*, *MluI*, *NotI* e *XhoI*) promove clivagem somente do alelo não-metilado.

com bissulfito seguido de seqüenciamento ou de reação em cadeia da polimerase (PCR) de metilação-específica³ (Trinh et al., 2001). Entretanto, a confirmação do *imprinting* se dá por meio da avaliação da expressão gênica alelo-específica parental⁴.

Uma vez que essas técnicas são laboriosas e só permitem a avaliação de poucos genes, tem-se utilizado o mapeamento genético para identificação de genes *imprinted* baseado em mapas de ligação. Para tanto, métodos estatísticos que incorporam o *genomic imprinting* no mapeamento genético de QTLs estão sendo desenvolvidos (Cui, 2007). Nessas análises, o efeito de *imprinting* deve ser diferenciado do efeito materno⁵.

Considerações finais

Além do código genético, fatores citoplasmáticos ou epigenéticos interferem na expressão gênica. A expressão de alguns genes controlada pela sua origem, materna ou paterna, denominada de *genomic imprinting*, derrubou algumas bases genéticas estabelecidas e contribuiu para a compreensão de diversos fenômenos anteriormente inexplicados.

³ O tratamento do DNA com bissulfito de sódio converte as citosinas não-metiladas em uracilas (transformação do DNA com bissulfito). Posteriormente, faz-se a amplificação do DNA transformado por PCR. Para isso, duas estratégias podem ser utilizadas: 1) utilização de *primers* desenhados para cobrir os sítios potenciais de metilação: PCR de metilação-específica (duas reações separadas, uma com *primers* para segmento metilado e outra para não-metilado); 2) amplificação com *primers* que evitam sítios de CpG, seguida de análise do produto por seqüenciamento (seqüenciamento com bissulfito) ou por digestão com enzima de restrição (*combined bisulfite restriction analysis*).

⁴ Comparação entre as seqüências de produtos de RT-PCR e de PCR de DNA genômico, em indivíduos heterozigotos (com polimorfismos conhecidos), visando à determinação da origem parental do alelo expresso.

⁵ A expressão de um gene *imprinted* depende do sexo do parente do qual ele foi herdado e, como resultado, os heterozigotos recíprocos podem apresentar diferentes fenótipos (o indivíduo que herdou o alelo A₁ da mãe e o alelo A₂ do pai possui fenótipo diferente do indivíduo que herdou o A₁ paterno e o A₂ materno). Em contraste, o efeito materno surge quando, além da herança direta dos alelos, as características genéticas e as ambientais (fenótipicas) da mãe influenciam o fenótipo da progênie. Esses efeitos contribuem para a semelhança entre filhos da mesma mãe e entre mãe e filhos para características como crescimento da progênie, produção e suscetibilidade a doenças (Santure & Spencer, 2006).

O *imprinting* participa na regulação do crescimento do feto, no suprimento sanguíneo e na formação da placenta, na supressão de tumores, na proteção do organismo contra DNA estranho, na memória celular, na expressão de hormônios e na produtividade de animais, entre outros. Portanto, tal mecanismo é de extrema importância para a vitalidade do organismo e para a realização plena de suas funções. Dessa maneira, o *imprinting* anômalo pode acarretar falhas no desenvolvimento e no crescimento, no surgimento de doenças humanas e animais, na formação de tumores e no envelhecimento celular.

Portanto, o estudo dos mecanismos de *imprinting*, das suas implicações e das suas possibilidades de correção faz-se necessário, pois pode facilitar a compreensão de diversos mecanismos fisiológicos, trazer benefícios à saúde humana e animal e servir como ferramenta na seleção de animais superiores.

Referências bibliográficas

ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J. D. **Molecular biology of the cell**. 3. ed. New York : Garland Publishing, 1994. p. 451.

BEAUDET, A. L.; JIANG, Y. H. A rheostat model for a rapid and reversible form of imprinting-dependent evolution. **American Journal of Human Genetics**, v. 70, n. 6, p. 1389-1397, 2002.

BOURC'HIS, D.; Le BOURHIS, D.; PATIN, D.; NIVELEAU, A.; COMIZZOLI, P.; RENARD, J. P.; VIEGAS-PEQUIGNOT, E. Delayed and incomplete reprogramming of chromosome methylation patterns in bovine cloned embryos. **Current Biology**, v. 11, n. 19, p. 1542-1546, 2001.

CEZAR, G. G.; BARTOLOMEI, M. S.; FORSBERG, E. J.; FIRST, N. L.; BISHOP, M. D.; EILERTSEN, K. J. Genome-wide epigenetic alterations in cloned bovine fetuses. **Biology of Reproduction**, v. 68, n. 3, p. 1009-1014, 2003.

COX, G. F.; BÜRGER, J.; LIP, V.; MAU, U. A.; SPERLING, K.; WU, B-L.; HORSTHEMKE, B. Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects. **American Journal of Human Genetics**, v. 71, n. 1, p. 162-164, 2002.

CRUZ, Y. P.; PEDERSON, R. A. Origin of embryonic and extraembryonic cell lineages in mammalian embryos. In: PEDERSON, R. A.; MCLAREN, A.; FIRST, N. (Ed.). **Animal application of research in mammalian development**. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1991. p. 147-204.

CUI, Y. A statistical framework for genome-wide scanning and testing of imprinted quantitative trait loci. **Journal of Theoretical Biology**, v. 244, n. 1, p. 115-126, 2007.

DAVIES, W.; ISLES, A.; SMITH, R.; KARUNADASA, D.; BURRMANN, D.; HUMBY, T.; OJARIKRE, O.; BIGGIN, C.; SKUSE, D.; BURGOYNE, P.; WILKINSON, L. Xlr3b is a new imprinted candidate for X-linked parent-of-origin effects on cognitive function in mice. **Nature Genetics**, v. 37, n. 6, p. 625-629, 2005.

DEAN, W.; BOWDEN, L.; AITCHISON, A.; KLOSE, J.; MOORE, T.; MENESES, J. J.; REIK, W.; FEIL, R. Altered imprinted gene methylation and expression in completely ES cell-derived mouse fetuses: association with aberrant phenotypes. **Development**, v. 125, n. 12, p. 2273-2282, 1998.

DEAN, W.; SANTOS, F.; STOJKOVIC, M.; ZAKHARTCHENKO, V.; WALTER, J.; WOLF, E.; REIK, W. Conservation of methylation reprogramming in mammalian development: aberrant reprogramming in cloned embryos. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 24, p. 13734-13738, 2001.

DeBAUN, M. R.; NIEMITZ, E. L.; FEINBERG, A. P. Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann Syndrome and epigenetic alterations of *LIT1* and *H19*. **American Journal of Human Genetics**, v. 72, n.1, p. 156-160, 2003.

FEIL, R.; BERGER, F. Convergent evolution of genomic imprinting in plants and mammals. **Trends in Genetics**, v. 23, n. 4, p. 192-199, 2007.

HAGEMANN, L. J.; PETERSON, A. J.; WEILERT, L. L.; LEE, R. S.; TERVIT, H. R. In vitro and early in vivo development of sheep gynogenones and putative androgenones. **Molecular Reproduction and Development**, v. 50, n. 2, p. 154-162, 1998.

HOLL, J. W.; CASSADY, J. P.; POMP, D.; JOHNSON, R. K. A genome scan for quantitative trait loci and imprinted regions affecting reproduction in pigs. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 12, p. 3421-3429, 2004.

IMPRINTED gene catalogue. Disponível em: <<http://igc.otago.ac.nz/home.html>>. Acesso em: 9 maio 2007.

JAENISCH, R. DNA methylation and imprinting: why bother? **Trends in Genetics**, v. 13, n. 8, p. 323-329, 1997.

JIRTLE, R. L.; WEIDMAN, J. R. Imprinted and more equal: why silence perfectly good copies of important genes? The answer may lie in a battle between mother and father staged in the genome of their offspring. **American Scientist**, v. 95, n. 2, p. 143-149, 2007. Disponível em: <<http://www.americanscientist.org/IssueTOC/issue/941>>. Acesso em: 9 maio 2007.

KANG, Y. K.; KOO, D. B.; PARK, J. S.; CHOI, Y. H.; CHUNG, A. S.; LEE, K. K.; HAN, Y. M. Aberrant methylation of donor genome in cloned bovine embryos. **Nature Genetics**, v. 28, n. 2, p. 173-177, 2001.

KENDREW, J. **The encyclopedia of molecular biology**. Oxford: Blackwell Science, 1994. p. 790-794.

KONING, D. J. de; RATTINK, A. P.; HARLIZIUS, B.; van ARENDONK, J. A. M.; BRASCAMP, E. W.; GROENEN, M. A. M. Genome-wide scan for body composition in pigs reveals important role of imprinting. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 14, p. 7947-7950, 2000.

KONO, T. Influence of epigenetic changes during oocyte growth on nuclear reprogramming after nuclear transfer. **Reproduction Fertility and Development**, v. 10, n. 7-8, p. 593-598, 1998.

KONO, T.; OBATA, Y.; WU, Q.; NIWA, K.; ONO, Y.; YAMAMOTO, Y.; PARK, E. S.; SEO, J.-S.; OGAWA, H. Birth of parthenogenetic mice that can develop to adulthood. **Nature**, v. 428, n. 6985, p. 860-864, 2004.

LEFEBVRE, L.; VIVILLE, S.; BARTON, S. C.; ISHINO, F.; KEVERNE, E. B.; SURANI, M. A. Abnormal maternal behavior and growth retardation associated with loss of the imprinted gene *Mest*. **Nature Genetics**, v. 20, n. 2, p. 163-169, 1998.

LEI, H.; OH, S. P.; OKANO, M.; JUTTERMANN, R.; GROSS, K. A.; JAENISCH, R.; LI, E. De novo DNA cytosine methyltransferase activities in mouse embryonic stem cells. **Development**, v. 122, n. 10, p. 3195-3205, 1996.

LIZE, A.; CORTESERO, A. M.; ATLAN, A.; POINSOT, D. Kin recognition in *Aleochara bilineata* could support the kinship theory of genomic imprinting. **Genetics**, v. 175, n. 4, p. 1735-1740, 2007.

LOI, P.; LEDDA, S.; FULKA Jr., J.; CAPPAL, P.; MOOR, R. M. Development of parthenogenetic and cloned ovine embryos: effect of activation protocols. **Biology of Reproduction**, v. 58, n. 5, p. 1177-1187, 1998.

MANN, M. R. W.; BARTOLOMEI, M. S. Epigenetic reprogramming in the mammalian embryo: struggle of the clones. **Genome Biology**, v. 3, n. 2, reviews1003, 2002.

McGRATH, J.; SOLTER, D. Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. **Cell**, v. 37, n. 1, p. 179-183, 1984.

MÉO-NICIURA, S. C. **Interação núcleo-citoplasmática em embriões e expressão de genes “imprinted” em fetos bovinos produzidos *in vivo*, *in vitro* e partenogenéticos**. 2005. 115f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

NEZER, C.; COLLETTE, C.; MOREAU, L.; BROUWERS, B.; KIM, J.-J.; GIUFFRA, E.; BUYS, N.; ANDERSSON, L.; GEORGES, M. Haplotype sharing refines the location of an imprinted quantitative trait locus with major effects on muscle mass to a 250-kb chromosome segment containing the porcine *IGF2* gene. **Genetics**, v. 165, n.1, p. 277-285, 2003.

NIEMANN, H.; WRENZYCKI, C.; LUCAS-HAHN, A.; BRAMBRINK, T.; KUES, W. A.; CARNWATH, J. W. Gene expression patterns in bovine *in vitro*-produced and nuclear transfer derived embryos and their implications for early development. **Cloning and Stem Cells**, v. 4, n. 1, p. 29-38, 2002.

PERECIN, F. **Epigenética do desenvolvimento em bovinos: DNA metiltransferases e genes “imprinted” em embriões, fetos e placentas**. 2007. 83f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

REIK, W.; DEAN, W.; WALTER, J. Epigenetic reprogramming in mammalian development. **Science**, v. 293, n. 5532, p.1089-1093, 2001.

RIDEOUT III, W. M.; EGGAN, K.; JAENISCH, R. Nuclear cloning and epigenetic reprogramming of the genome. **Science**, v. 293, n. 5532, p. 1093-1098, 2001.

RUVINSKY, A. Basics of gametic imprinting. **Journal of Animal Science**, v. 77, supl. 2, p. 228-237, 1999.

SANTURE, A. W.; SPENCER, H. G. Influence of mom and dad: quantitative genetic models for maternal effects and genomic imprinting. **Genetics**, v. 173, n. 4, p. 2297-2316, 2006.

SASAKI, H.; FERGUSON-SMITH, A. C.; SHUM, A. S.; BARTON, S. C.; SURANI, M. A. Temporal and spatial regulation of *H19* imprinting in normal and uniparental mouse embryos. **Development**, v. 121, n. 12, p. 4195-4202, 1995.

SOLTER, D. Differential imprinting and expression of maternal and paternal genomes. **Annual Review of Genetics**, v. 22, p. 127-146, 1988.

SPAHN, L.; BARLOW, D. P. An ICE pattern crystallizes. **Nature Genetics**, v. 35, n. 1, p. 11-12, 2003.

SPIELMAN, M.; VINKENOOG, R.; DICKINSON, H. G.; SCOTT, R. J. The epigenetic basis of gender in flowering plants and mammals. **Trends in Genetics**, v. 17, n. 12, p. 705-711, 2001.

TANAKA, M.; PUCHYR, M.; GERTSENSTEIN, M.; HARPAL, K.; JAENISCH, R.; ROSSANT, J.; NAGY, A. Parental origin-specific expression of *Mash2* is established at the time of implantation with its imprinting mechanism highly resistant to genome-wide demethylation. **Mechanisms of Development**, v. 87, n. 1-2, p. 129-142, 1999.

TODER, R.; WILCOX, S. A.; SMITHWICK, N.; GRAVES, J. A. The human/mouse imprinted genes IGF2, H19, SNRPN and ZNF127 map to two conserved autosomal clusters in marsupial. **Chromosome Research**, v. 4, n. 4, p. 295-300, 1996.

TRINH, B. N.; LONG, T. I.; LAIRD, P. W. DNA methylation analysis by MethyLight technology. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 456-462, 2001.

VARMUZA, S.; MANN, M. Genomic imprinting defusing the ovarian time bomb. **Trends in Genetics**, v. 10, n. 4, p. 118-123, 1994.

WATSON, J. D.; ZOLLER, M.; GILMAN, M.; WITKOWSKI, J. **Recombinant DNA**. 2. ed. New York: Scientific American Books, 1992. p. 267-272.

WATTS, P. C.; BULEY, K. R.; SANDERSON, S.; BOARDMAN, W.; CIOFI, C.; GIBSON, R. Parthenogenesis in Komodo dragons. **Nature**, v. 444, n. 7122, p. 1021-1022, 2006.

WOLF, J. B.; HAGER, R. A maternal-offspring coadaptation theory for the evaluation of genomic imprinting. **PLoS Biology**, v. 4, n. 12, p. e380, 2006.

YAMAZAKI, W. **Estudo do “genomic imprinting” na placenta de clones bovinos**. 2006. 93f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

YOUNG, L. E.; FAIRBURN, H. R. Improving the safety of embryo technologies: possible role of genomic imprinting. **Theriogenology**, v. 53, n. 2, p. 627-648, 2000.

ZHANG, S.; KUBOTA, C.; YANG, L.; ZHANG, Y.; PAGE, R.; O'NEILL, M.; YANG, X.; TIAN, X. C. Genomic imprinting of H19 in naturally reproduced and cloned cattle. **Biology of Reproduction**, v. 71, n. 5, p. 1540-1544, 2004.