

Isolamento de células somáticas derivadas de sêmen bovino crioconservado

Autor: Verônica Rafaela Benvenuti

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Rodrigues

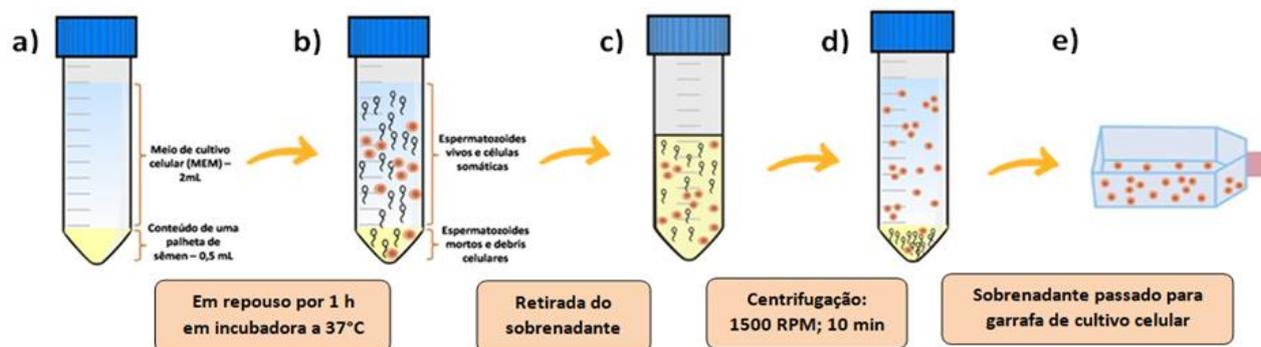
INTRODUÇÃO

Atualmente, tem-se o conhecimento de que animais em risco de extinção têm população decrescente e há a ameaça, em curto espaço de tempo, de não mais existirem exemplares vivos dessas espécies. Uma maneira encontrada por pesquisadores para manter essas populações é a partir da organização de bancos de células e de genomas. Além disso, a utilização de sêmen crioconservado para técnicas de reprodução assistida em animais de produção é essencial para manutenção populacional dos rebanhos. Células reprodutivas são uma das reservas de genoma comumente armazenadas, utilizadas para a manutenção de bancos de germoplasma renováveis através da produção de clones. Além disso, uma alternativa para a clonagem, ainda hoje de difícil execução, é o isolamento de células somáticas de doses comerciais de sêmen submetidas ao congelamento.

O objetivo do experimento é isolar e cultivar células somáticas de sêmen bovino crioconservado.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a separação das células somáticas a partir do sêmen bovino crioconservado foi proposto o seguinte protocolo: a) realização da técnica de *swimup*, que consiste na adição de 2 mL de meio para cultivo celular (MEM) em um tubo e adição do sêmen de uma palheta (0,5 mL) no fundo desse tubo; b) este, é mantido em incubadora à temperatura de 37°C, objetivando a separação dos espermatozoides e das células; c) após uma hora, o sobrenadante de 2 mL é retirado e passado para um novo tubo, o qual é centrifugado por 10 min a 1500 RPM; d) retira-se o sobrenadante de 1,5 mL do tubo centrifugado, que contém as células somáticas; e) o sobrenadante de 1,5 mL é colocado em garrafas de cultivo celular, onde é adicionado 3,5 mL de meio MEM, com 20% de soro fetal bovino, e mantido em incubadora a 37°C.



RESULTADOS

Os resultados alcançados foram a separação de células somáticas do sêmen e a sua adesão às garrafas de cultivo celular.



Figura. Células somáticas isoladas de diferentes palhetas (0,5 mL) de sêmen bovino crioconservado.

CONCLUSÕES

O isolamento das células somáticas a partir do sêmen bovino crioconservado foi realizado, obtendo-se soluções livres de espermatozoides. Além disso, as células colocadas em cultivo celular apresentaram adesão à garrafa de cultivo, que se manteve por 7 dias, mas sem proliferação celular.

Frente ao exposto, conclui-se que há a necessidade de compreender as particularidades e as dificuldades que essas células apresentam para proliferação, objetivando facilitar a multiplicação celular para a manutenção de bancos de germoplasma renováveis dos machos de interesse, dos quais poderão ser obtidos clones.