



## Conectando vidas Construindo conhecimento



**XXXIII SIC** SALÃO INICIAÇÃO CIENTÍFICA

<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2021: SIC - XXXIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2021
<b>Local</b>	Virtual
<b>Título</b>	Avaliação da taxa de clivagem de embriões clones bovinos produzidos pela técnica Handmade Cloning (HMC) empregando fibroblastos como carioplastos
<b>Autor</b>	VERÔNICA RAFAELA BENVENUTTI
<b>Orientador</b>	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 Benvenuto**  
**Orientador: Prof. Dr. José Luiz Rodrigues**

**Avaliação da taxa de clivagem de embriões clones bovinos produzidos pela técnica *Handmade Cloning* (HMC) empregando fibroblastos como carioplastos**

A clonagem é uma biotécnica reprodutiva que apresenta diversas aplicações. No cenário da reprodução animal, ela é um importante método de replicação de animais com características genética e/ou fenotipicamente desejáveis. Para realização da clonagem por transferência nuclear de célula somática (TNCS) a técnica mais utilizada é a convencional, utilizando micromanipuladores para enucleação dos oócitos (citoplastos) e transferência das células doadoras de núcleo (carioplastos). Apesar disso, existe uma técnica alternativa, o *Handmade Cloning* (HMC) em que todos os processos são realizados manualmente. O objetivo do experimento foi avaliar a taxa de clivagem na produção de embriões clones bovinos pela técnica HMC, utilizando fibroblastos criopreservados como carioplastos. Para produção dos clones foi proposto o seguinte protocolo: a) descongelamento de palhetas contendo fibroblastos e sua transferência para um poço de placa Nunc, mantendo-os em meio DMEM a 37°C; b) aspiração folicular de complexos *cumulus*-oócito (CCOs) de ovários de vacas de abatedouro; b) maturação *in vitro* dos CCOs por um período de 17 h; c) desnudamento e avaliação da maturação nuclear dos oócitos, pela observação do corpúsculo polar; d) produção dos citoplastos (enucleação) pela bipartição oocitária; e) tripsinização dos fibroblastos; f) montagem do embrião clone, justapondo dois hemioócitos sem material genético e um fibroblasto; g) eletrofusão das estruturas; h) ativação dos embriões clones e de oócitos (partenotos) com e sem zona pelúcida (ZP), utilizados como grupos controle para ativação; i) cultivo *in vitro* (CIV) das estruturas; j) avaliação da taxa de clivagem no Dia 2 do CIV. A taxa de fusão observada foi 55,5%, e a taxa de clivagem foi 19%, inferior ( $p \leq 0,05$ ) à observada nos partenotos com ZP (58%) e sem ZP (43%). Concluiu-se que a taxa de clivagem dos embriões clones, empregando-se fibroblastos congelados como carioplastos pela técnica HMC foi reduzida, necessitando-se realizar outras replicações para obtenção de dados mais conclusivos.