



EXPRESSÃO GÊNICA DE *HAS-2*, *BMP-15* E *GDF-9* EM OÓCITOS BOVINOS

Roberta Gomes Duranti^{1*}, Eliana F. Lopes¹, Alexandre T. D. Oliveira², Rui F. F. Lopes¹

¹Lab. de Biotecnologia Animal Aplicada, Dep. Ciências Morfológicas, ICBS/ UFRGS

²Dep. Ciências Básicas da Saúde/ UFCSPA

INTRODUÇÃO

Um ambiente equilibrado é fundamental tanto para o crescimento folicular *in vivo* como para a maturação *in vitro* (MIV), uma vez que alterações na expressão de genes durante a fase de maturação oocitária podem ter influência sobre o desenvolvimento embrionário. A expressão de proteínas associadas à matriz extracelular das células do *cumulus oophorus*, como a proteína *HAS-2* (ácido hialurônico sintase 2), envolvida na síntese de ácido hialurônico e importante no processo de expansão da matriz, está sob influência de fatores oocitários e de fatores relacionados à composição do meio de MIV. Fatores de crescimento como a proteína *GDF-9* (*growth differentiation factor 9*) e a *GDF-9B*, conhecida como *BMP-15* (*bone morphogenetic protein 15*), desempenham papel importante no desenvolvimento do folículo ovariano, apresentando efeito sinérgico na proliferação das células da granulosa e na expansão das células do *cumulus* durante a maturação do oócito. O objetivo deste trabalho foi analisar a expressão dos transcritos de *HAS-2*, *BMP-15* e *GDF-9* em oócitos bovinos submetidos à MIV em meio TCM199 suplementado com 10% de soro fetal bovino.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os complexos *cumulus*-oócito (CCOs) obtidos após a aspiração de folículos ovarianos de fêmeas bovinas foram divididos em dois grupos: G1 - CCOs imaturos e G2 - CCOs submetidos à MIV. Nos dois grupos, os oócitos foram isolados das células do *cumulus*, antes (G1) ou após (G2) a MIV, e armazenados em nitrogênio líquido. A extração do mRNA dos oócitos foi realizada através de separação magnética (Dynabeads[®] mRNA DIRECT[™] Micro Kit, Dynal, Noruega); como controle interno da extração foi utilizado mRNA de α -globina de coelho. Através das técnicas de RT-PCR, foi possível observar a expressão dos transcritos de *HAS-2*, *BMP-15* e *GDF-9* nos dois grupos experimentais. Os produtos de amplificação foram submetidos à eletroforese em gel de agarose, fotografados (Figura 1) e analisados com o auxílio do programa Scion Image (Scion Corporation, USA).

RESULTADOS

A análise estatística (ANOVA) dos resultados obtidos no ensaio semi-quantitativo de RT-PCR não mostrou diferença significativa na expressão dos transcritos de *HAS-2* ($p=0,196$) e *BMP-15* ($p=0,626$) entre os grupos de oócitos imaturos e submetidos à MIV (Figura 2). No entanto, houve diferença significativa na expressão do gene *GDF-9* ($p=0,045$) entre os dois grupos (Figura 2). A maturação influenciou a expressão de *GDF-9* nos oócitos bovinos maturados *in vitro*.

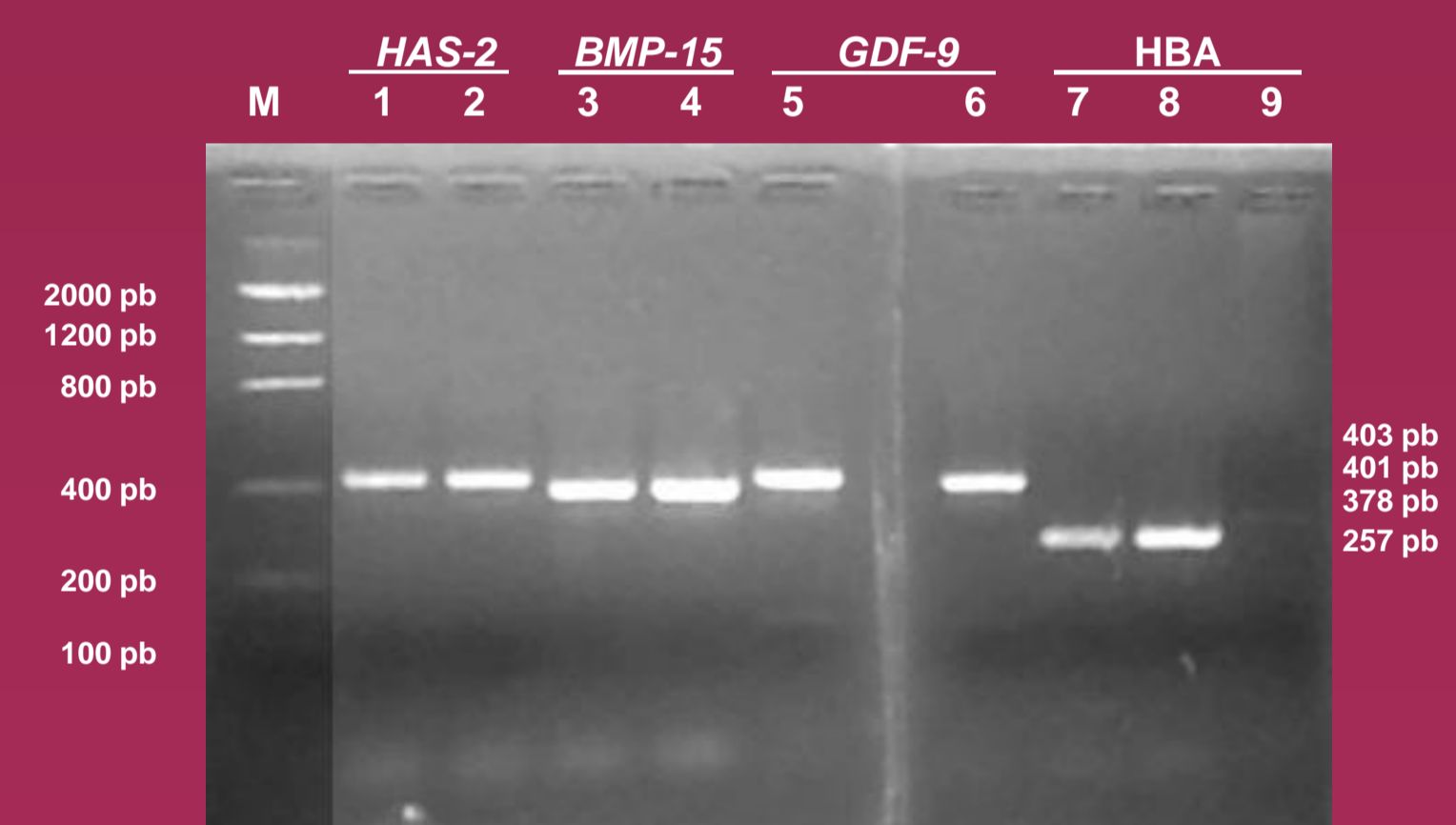


FIGURA 1: Eletroforese em gel de agarose 2% corado com brometo de etídio (0,5 $\mu\text{g/ml}$), mostrando amostras de cDNA de oócitos bovinos submetidas à RT-PCR para os transcritos de *HAS-2* (amostras 1 e 2; 403 pb), de *BMP-15* (amostras 3 e 4; 378 pb), de *GDF-9* (amostras 5 e 6; 401pb) e de α -globina (amostras 7 e 8; 257 pb). M - padrão de peso molecular; amostras 1, 3, 5 e 7: oócitos não submetidos à MIV (NM); amostras 2, 4, 6 e 8: oócitos submetidos à MIV (M); amostra 9: controle negativo.

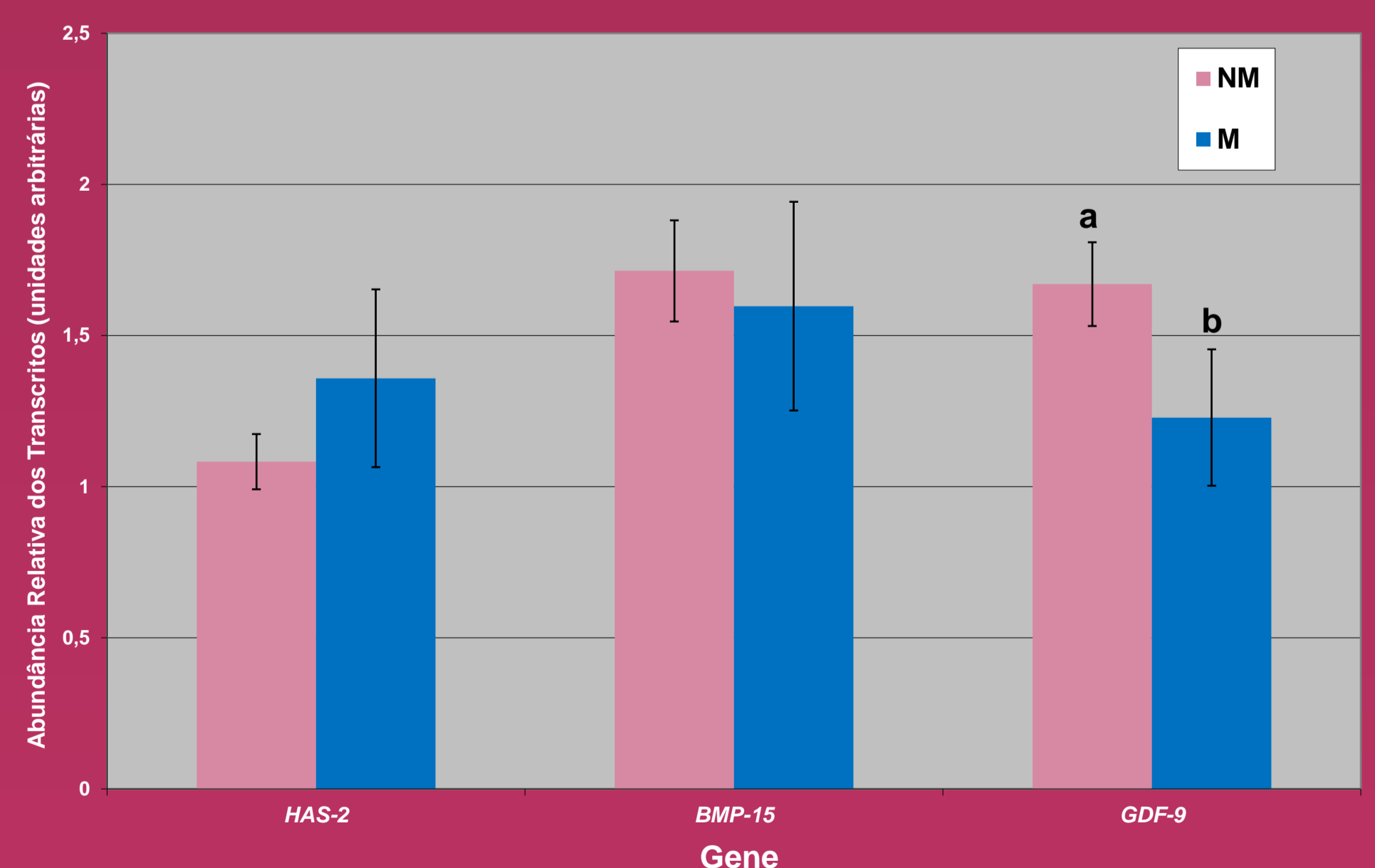


FIGURA 2: Abundância relativa dos transcritos de *HAS-2* ($p=0,196$), *BMP-15* ($p=0,626$) e *GDF-9* ($p=0,045$) nos diferentes grupos de oócitos bovinos.