

123

**BIÓPSIA EMBRIONÁRIA POR MICROASPIRAÇÃO CELULAR.** Eduardo S. da Silveira, Fabiana Forell, José Luiz Rodrigues. (Laboratório de Embriologia e Biotécnicas de Reprodução, Faculdade de Veterinária, UFRGS). O objetivo do experimento foi testar uma técnica de micromanipulação para viabilizar a biópsia embrionária e o diagnóstico pré-natal. Embriões bovinos produzidos a partir de oócitos maturados, fecundados e desenvolvidos *in vitro* foram utilizados como modelo experimental. Solução fisiológica (NaCl 0,9%) com  $10^6$  UI de penicilina G sódica e 50 mg de estreptomicina foi o meio utilizado para colheita e transporte dos ovários do frigorífico até o laboratório. A escarificação dos ovários e a colheita dos oócitos foi realizada em PBS modificado (DULBECCO & VOGT, 1954) acrescido de  $10^6$  UI de penicilina G sódica, 50 mg de estreptomicina, 2300 UI de heparina com 1% de soro fetal bovino (SFB) por litro de solução. Maturou-se os oócitos em TCM-199 acrescido de FSH, LH, estradiol e 10% de soro de vaca em estro (SVE). Os espermatozoides foram separados através de gradiente de Percoll e capacitados no momento da fecundação em Fert-Talp (PARRISH, 1986). Os zigotos foram cultivados em SOF modificado adicionado de 0,4% de BSA (TERVIT et al., 1972). Para proceder-se a biópsia, os embriões foram primeiramente expostos a uma solução de PBS sem  $Ca^{+2}$  e  $Mg^{+2}$  com a finalidade de desfazer as ligações entre os blastômeros. Com o auxílio de um micromanipulador (Narishigue) procedeu-se a abertura da zona pelúcida e a retirada de células do trofoectoderma embrionário. As células isoladas foram acondicionadas em solução tampão contendo proteases para posterior amplificação enzimática do DNA. Dos 19 embriões biopsiados 9 (47,4%) eclodiram após o cultivo individual. No grupo controle (s/biópsia) de 22 embriões cultivados individualmente 8 (36,4%) eclodiram. Dos 43 embriões biopsiados e cultivados em grupo 25 (58%) eclodiram enquanto que no grupo controle de 40 embriões, 20 (50%) eclodiram. Os dados foram analisados pelo Q-quadrado e não mostraram diferença significativa. Das amostras obtidas conseguiu-se 90% de amplificação do DNA, empregando-se primers para a identificação do cromossoma sexual masculino. A utilização de diferentes primers possibilitará o diagnóstico pré-natal de diferentes enfermidades, com ênfase nos programas de reprodução assistida humana, pois a técnica de micromanipulação utilizada não diminui a viabilidade embrionária (CNPq- proj. integrado).