

278

UTILIZAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS NA PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES CLONES BOVINOS.

Cristiano Feltrin, Natália Schmidt Arruda, Eduardo Allix, Felipe Ledur Ongaratto, Luiz Felipe Steigleder, Alexander Nivia Osuna, Artur Emílio Freitas e Silva, Luis Mauro Queiroz, Maurício Peixer, Patrícia Malard, Gilmar Santana, Fabiana Forell, José Luiz Rigo Rodrigues (orient.) (UFRGS).

Usualmente células somáticas (CS) são empregadas na produção de clones de diferentes espécies mamíferas. Por outro lado, atualmente se tem à disposição diferentes linhagens de células-tronco, que pelo seu alto grau de indiferenciação poderiam, com maior eficiência, serem utilizadas para produção de clones. O objetivo deste experimento foi avaliar a eficiência das células-tronco mesenquimais (CTM) em produzir embriões clones bovinos utilizando a técnica de "handmade cloning". Oócitos bovinos foram maturados *in vitro* durante 19 horas. Após, tiveram a zona pelúcida digerida pela exposição a uma solução enzimática, sendo em seguida divididos manualmente e expostos à luz UV, para identificação e descarte da metade contendo material nuclear. As metades selecionadas e a célula doadora de núcleo (CTM ou CS) eram então transferidas para uma solução contendo fitohemoaglutinina. Finalmente, fusionou-se os complexos oócitos receptores-núcleos doadores (CRNDs) com o auxílio de um eletrofusor. A indução da ativação foi realizada pela exposição à ionomicina (5 min) e 6-DMAP (3h e 30min). No cultivo *in vitro*, os CRNDs foram divididos em dois grupos: 1) célula somática (CS) – grupo controle; 2) célula-tronco mesenquimal (CTM). Os dados de clivagem e desenvolvimento embrionário foram submetidos à análise estatística pelo teste do chi-quadrado. No grupo CS, a taxa de clivagem foi de 81,4% (79/97) e a de blastocisto foi de 32,9% (32/97). No grupo CTM, dos 108 CRNDs colocados em cultivo, 85 (78,7%) clivaram e 24 (22,2%) alcançaram o estágio de blastocisto. Não houve diferença significativa na taxa de clivagem e desenvolvimento embrionário entre os grupos ($P < 0,05$). Portanto, as CTM foram capazes de produzir embriões clones *in vitro* com a mesma eficiência observada com o emprego das CS.

tiveram a zona pelúcida digerida pela exposição a uma solução enzimática, sendo em seguida divididos manualmente e expostos à luz UV, para identificação e descarte da metade contendo material nuclear. As metades selecionadas e a célula doadora de núcleo (CTM ou CS) eram então transferidas para uma solução contendo fitohemoaglutinina. Finalmente, fusionou-se os complexos oócitos receptores-núcleos doadores (CRNDs) com o auxílio de um eletrofusor. A indução da ativação foi realizada pela exposição à ionomicina (5 min) e 6-DMAP (3h e 30min). No cultivo *in vitro*, os CRNDs foram divididos em dois grupos: 1) célula somática (CS) – grupo controle; 2) célula-tronco mesenquimal (CTM). Os dados de clivagem e desenvolvimento embrionário foram submetidos à análise estatística pelo teste do chi-quadrado. No grupo CS, a taxa de clivagem foi de 81,4% (79/97) e a de blastocisto foi de 32,9% (32/97). No grupo CTM, dos 108 CRNDs colocados em cultivo, 85 (78,7%) clivaram e 24 (22,2%) alcançaram o estágio de blastocisto. Não houve diferença significativa na taxa de clivagem e desenvolvimento embrionário entre os grupos ($P < 0,05$). Portanto, as CTM foram capazes de produzir embriões clones *in vitro* com a mesma eficiência observada com o emprego das CS.