

## PADRÃO DE METILAÇÃO DOS GENES XIST E IGF2 EM OVÓCITOS DE FOLÍCULOS ANTRAIS DE VACAS NELORE

Anelise dos Santos Mendonça<sup>1\*</sup>, Rosana Camargo Nishimura<sup>2</sup>, Sidney Alcântara Pereira<sup>3</sup>, Catherine Lara Rocha<sup>4</sup>, Margot Alves Nunes Dode<sup>5</sup>, Maurício Machaim Franco<sup>6</sup>

Modificações epigenéticas são eventos que controlam a expressão diferencial de genes, sendo a metilação do DNA um dos mais conhecidos, importante para a reprogramação epigenética durante a gametogênese. Entender como isso ocorre na ovogênese é importante para criar parâmetros para a competência ovocitária com o intuito de melhorar a produção *in vitro* de embriões. Nesse trabalho objetivou-se avaliar o padrão de metilação em ovócitos de duas categorias de folículos antrais: entre 1 e 3 mm e maiores que 6 mm. Para isso foram escolhidas duas ilhas CpGs, uma no éxon 1 do gene XIST – que está relacionado com a inativação do cromossomo X em fêmeas, e outra no último éxon do gene IGF2 – envolvido no desenvolvimento embrionário e placentação. Os ovócitos foram obtidos a partir de ovários de vacas Nelore provenientes de abatedouros usando o *tissue chopper* e sucessivas pipetagens para o isolamento dos ovócitos. A classificação dos ovócitos foi realizada de acordo com o seu diâmetro. O DNA extraído dos ovócitos foi tratado

com bissulfato de sódio e os genes de interesse foram amplificados através de PCR *nested*. Os produtos purificados de gel de agarose 2% foram utilizados para clonagem em células DH5 $\alpha$ . Os clones foram sequenciados usando a metodologia dideoxi e analisados no programa BiQ Analyzer utilizando sequências controle do “GenBank”. Apenas sequências com mais de 90% de identidade e de conversão pelo bissulfato de sódio foram consideradas para análises. Os resultados mostraram que os ovócitos de folículos entre 1 e 3 mm e maiores que 6 mm possuem padrão de metilação iguais, tanto para o gene XIST (89,5% e 92,7%, respectivamente) quanto para o gene IGF2 (73,4% e 61,5%, respectivamente). Esses dados sugerem que, pelo menos para as regiões estudadas, o padrão de metilação já está estabelecido a partir da fase antral do folículo ovariano em ovócitos imaturos.

**Palavras-chave:** *Bos indicus*. Epigenética. Ovogênese

<sup>1</sup>Ciências Veterinárias, mestrado, Universidade Federal de Uberlândia – UFU.

<sup>2</sup>Ciências Animais, M.Sc, Universidade de Brasília - UnB.

<sup>3</sup>Biologia Animal, mestrado, Universidade de Brasília – UnB.

<sup>4</sup>Medicina Veterinária, graduação, União Pioneira de Integração Social – UPIS.

<sup>5</sup>Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

<sup>6</sup>Genética, Ph. D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Projeto de Pesquisa - Apoio: CAPES, CNPq, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

\*Autor para correspondência: anelise.mendonca@yahoo.com.br