



ENEPEX

ENCONTRO DE ENSINO,
PESQUISA E EXTENSÃO

8° ENEPE UFGD • 5° EPEX UEMS

Perfil da metilação de H3K4 e ativação da BRG1 em oócitos bovinos imaturos

Jonathan Vinícius dos Santos¹; Mirela Brochado Souza; Ana Caroline Bini de Lima;

Jéssica Rodrigues da Silva; Caroline Ferreira Medeiros; Fabiana de Andrade Melo

Sterza².

UEMS – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, UUA - Unidade Universitária de Aquidauana. Rodovia Aquidauana/UEMS – Km 12 – CEP: 79200-000. E-mail: Jonathan-true@hotmail.com

¹Bolsista de Iniciação Científica da UEMS e Acadêmico do Curso de Zootecnia. ²Orientadora e Docente do curso de Zootecnia.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de H3K4 e BRG1 em oócitos imaturos. Foram coletados ovários de abatedouro local. Folículos antrais foram aspirados, e os Complexos Cumulus Oophorus obtidos foram classificados em grau 1 e 2. Em seguida foram desnudados e fixados em PAF 3% (Paraformaldeído) e armazenados a 4 °C para posterior análise de imunocitoquímica. Os oócitos foram divididos em dois grupos, H3K4 (15 oócitos) e BRG1 (15 oócitos). Inicialmente os oócitos foram lavados e permeabilizados por 20 minutos à 0°C. Após três lavagens e bloqueio por 2 horas em temperatura ambiente, procedeu-se a incubação com o anticorpo primário policlonal, anti-H3K4 tri-metil (Abcam, ab8580; 1:500) ou anti-BRG1 (Abcam, ab1932; 1:100) over night à 4°C. No dia seguinte, foram realizadas quatro lavagens e em seguida foi feita a incubação com anticorpo secundário anti-igG de coelho produzida em caprino (Alexafluor 594; 1:100) por 5 horas em temperatura ambiente. Depois disso procederam-se quatro vezes lavagens de 10 minutos cada. A coloração do DNA nuclear foi feita com Diamidino-2-fenilindol (DAP; 1:10000) por 20 minutos no escuro em temperatura ambiente. Após isso os oócitos foram fixados em PAF 2% over night à 4°C. No terceiro dia, foram preparadas as lâminas para as análises sob microscópio epifluorescente. Apenas 20% (3/15) dos oócitos avaliados foram marcados com H3K4 e também 0,0% (0/15) foram marcados com BRG1. Os resultados preliminares sugerem que oócitos bovinos imaturos apresentam a cromatina em estado pouco ativo mediado pela H3K4 desmetilada e a inatividade de BRG1.

Apoio financeiro: FUNDECT-MS

Palavra-chave: Ovócitos; imunofluorescência; epigenética