

Tese para obtenção do título de Doutor

Por: Paula Lumy Takeuchi

Orientador: Ester Silveira Ramos

Título: “*Expressão dos genes TSPX e SRY em embriões bovinos pré-implantacional*”.
Universidade de São Paulo - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.
Departamento de Genética, defendida em 02 de Abril de 2008.

Resumo: TSPX e SRY são genes específicos dos cromossomos X e Y, respectivamente, que estão envolvidos nos processos da transcrição, regulação do ciclo celular e podem estar relacionados às diferenças na velocidade de desenvolvimento entre embriões machos e fêmeas de mamíferos no período pré-implantacional. Objetivos: Verificar a expressão dos genes TSPX e SRY em embriões bovinos pré-implantação produzidos por fertilização in vitro e comparar a expressão de TSPX entre embriões masculinos e femininos por PCR em tempo real. Material e Métodos: Como amostra controle foi utilizado tecido testicular bovino. Foram analisados pools de 20 embriões produzidos por fertilização in vitro para cada fase do desenvolvimento embrionário pré-implantação (1-2, 2-4, 4-8, 8-16, 16-32 células, mórula e blastocisto) para análise qualitativa de expressão dos genes TSPX e SRY por RT-PCR. A seqüência obtida após a amplificação para o gene TSPX foi seqüenciada para confirmação da origem do segmento estudado. Para a análise quantitativa por PCR em tempo real foram obtidos seis embriões individualizados submetidos à extração concomitante de DNA (para a sexagem utilizando o gene TSPY) e RNA. O gene da β -actina serviu como controle. Resultados: Foram encontrados transcritos dos genes TSPX e SRY no tecido testicular e em todas as fases analisadas do desenvolvimento embrionário bovino, exceto no estágio de 1-2 células. Com o DNA extraído foi possível realizar a sexagem dos embriões antes da análise quantitativa, a qual revelou a presença de transcritos de TSPX apenas nos blastocistos femininos e no tecido testicular. Conclusão: A expressão dos genes estudados mostrou-se muito precoce, sendo verificada em todos os estágios, exceto no de 1-2 células. Foi detectado um padrão de expressão diferencial de TSPX entre machos e fêmeas no estágio de blastocisto que, associado à expressão diferencial de TSPX apenas nos blastocistos femininos e no tecido testicular. Conclusão: A expressão dos genes estudados mostrou-se muito precoce, sendo verificada em todos os estágios, exceto no de 1-2 células. Foi detectado um padrão de expressão diferencial de TSPX entre machos e fêmeas no estágio de blastocistos que, associado à expressão de SRY nos embriões masculinos, poderia contribuir para diferença na velocidade de desenvolvimento entre os embriões machos e fêmeas relatada por vários autores nesse período do desenvolvimento embrionário.

Apoio: ANCP, CNPq, FAEPA, FAPESP.