

## Efeito da criopreservação lenta e da transgênese sobre fibroblastos caprinos da raça Canindé para formação de um banco de células somáticas

J.V.S. Albuquerque<sup>1\*</sup>, T.M.C. Santos<sup>1</sup>, S.B. Silva<sup>1</sup>, M.M.A.S. Silva<sup>1</sup>, L.M. Albuquerque<sup>1</sup>, V. Ribeiro Júnior<sup>2</sup>,  
M.S. Chaves<sup>1</sup>, Vicente José de Figueirêdo Freitas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Fisiologia e Controle da Reprodução, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil;

<sup>2</sup> Universidade Federal de Sergipe, Nossa Senhora da Glória, SE, Brasil.

### INTRODUÇÃO

A produção de animais transgênicos permite gerar animais que apresentam uma fração genética de interesse econômico, medicinal ou científico, a exemplo das cabras transgênicas para o Fator de Estimulação de Colônias de Granulócitos humano (hG-CSF). A partir das células somáticas geneticamente modificadas é possível produzir animais transgênicos após transferência nuclear, mantendo indivíduos com características de interesse. Entretanto o método de criopreservação celular interfere na sua funcionalidade celular, alterando seu metabolismo. Com isso, objetivou-se avaliar a influência da interação criopreservação e transgênese sobre a qualidade de fibroblastos caprinos da raça Canindé transgênicos para hG-CSF.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Fisiologia e Controle da Reprodução na Universidade Estadual do Ceará em Fortaleza-CE. Foram obtidas amostras de pele da orelha de fêmeas caprinas adultas transgênicas (hG-CSF) (n=2) e não transgênicas (n=2), que foram cultivadas *in vitro* até a obtenção de fibroblastos na terceira passagem. Em seguida, amostras de fibroblastos de animais transgênicos (AT) e não transgênicos (ANT) foram analisadas após serem criopreservadas em meio DMEM+ com 10% DMSO utilizando palhetas (CP) em congelador programável (Dominium-K, Biocom, Uberlândia, Brasil) ou utilizando criotubos (CC) em container de armazenamento (Nalgene Mr Frosty, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) (figura 1) por 18 h em freezer -80 °C e posteriormente em nitrogênio líquido. Foram avaliados a viabilidade celular pelo teste de azul de tripano, a funcionalidade celular pelo ensaio de MTT, produção de espécies reativas de oxigênio em unidades arbitrárias de fluorescência (UAFs) utilizando a sonda H2DCFDA e o tempo de duplicação celular realizando a contagem das células após 120 h de cultivo. Para as avaliações foi utilizado esquema fatorial 2x2 (2 tipos genéticos x 2 métodos de criopreservação celular). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, sendo analisados com nível de significância de 5%, utilizando o software SAS.

### RESULTADOS

A viabilidade e a funcionalidade celular não sofreram influência da interação transgênese (AT: 95,44% e ANT: 95,36%; AT: 1,17; ANT: 0,99, respectivamente) e método de criopreservação (CP: 96,33% e CC: 94,47%; CP: 1,01 e CC: 1,14, respectivamente). Quanto à produção de espécies reativas de oxigênio, a interação da transgênese (AT: 78,61 UAFs e ANT: 108,38 UAFs) e o método de criopreservação (CP: 90,41 UAFs e CC: 96,58 UAFs) não influenciou nos resultados. Por fim, o tempo de duplicação celular não sofreu influência da interação transgênese (AT: 32,74 h; ANT: 29,09 h) e método de criopreservação após 120 horas de cultivo (CP: 32,41 h e CC: 29,42 h).



**Figura 1:** Sistemas de criopreservação testados: dominium-k, a esquerda, e Mr Frosty a direita.

### CONCLUSÃO

Com base nos dados observados, conclui-se que a criopreservação de fibroblastos de caprinos transgênicos para hG-CSF se comporta de forma similar a de animais não transgênicos.

### AGRADECIMENTOS

