



Realização:



Apoio:



**XVII CIC
X ENPOS**

Conhecimento sem fronteiras
XVII Congresso de Iniciação Científica
X Encontro de Pós-Graduação
11, 12, 13 e 14 de novembro de 2008

Geração de zebrafish (*Danio rerio*) multi-transgênicos através de microinjeção de DNA

Autor(es): AMARAL, Marta, CAMPOS, Vinicius, COLLARES, Thaís, SEIXAS, Fabiana, SILVA, Evelise, KAEFER, Cristian, FRANCO, Adeline, GONÇALVES, Breno, FIGUEIREDO, Marcio, MARINS, Luis Fernando, COLLARES, Tiago, DESCHAMPS, João Carlos

Apresentador: Marta Gonçalves Amaral

Orientador: João Carlos Deschamps

Revisor 1: Luciano da Silva Pinto

Revisor 2: Cláudia Pinho Hartleben Fernandes

Instituição: Universidade Federal de Pelotas

Resumo:

Animais multi-transgênicos podem trazer benefícios para produção animal, de modelos experimentais para estudos do câncer e principalmente na geração de animais transgênicos biorreatores para a produção de fármacos. Assim, a produção de peixes expressando diferentes proteínas fluorescentes vem a contribuir no estudo de promotores gênicos para o efetivo direcionamento específico da expressão do gene alvo como, por exemplo, para os testículos de peixes que produzem grande volume de sêmen como o jundiá (*Rhamdia quelen*), dessa forma, é possível gerar um modelo de biorreator para produção de proteínas recombinantes no plasma seminal destas espécies. Os promotores Testin e CRISP-3 são altamente específicos e ativos nos túbulos seminíferos de mamíferos. Com isso, este trabalho teve como objetivo co-injetar as construções pGFP/queratin e pZsGreen/Testin ou pGFP/queratin e pZsGreen/CRISP-3 em blastômeros de embriões de zebrafish recém eclodidos. A construção contendo o promotor queratin, o qual dirige a expressão para o tecido epitelial, foi utilizada para a determinação in vivo dos animais que são transgênicos desde a eclosão dos ovos, uma vez que, os promotores em estudo começarão a funcionar quando o animal entrar em período reprodutivo. Foi microinjetado 300 pl em cada embrião, 534 embriões com os promotores Queratin/pGFP (20ng/μl) e Testin/pZsGreen (21ng/μl) e 247 embriões com os promotores Queratin/pGFP (20ng/μl) e Crisp-3/pZsGreen (22ng/μl). A visualização da expressão da GFP foi realizada com o sistema GOOGLES miner's lamp® (BLS®, Hungria). Foram obtidos oito transgênicos com as construções pGFP/queratin e pZsGreen/Testin identificados pela expressão da GFP no tecido epitelial e um animal com alta expressão epitelial da GFP com as construções pGFP/queratin e pZsGreen/CRISP-3. Esta forte expressão indica a alta probabilidade deste peixe ser homozigoto para as construções microinjetadas, o que aumenta a probabilidade de transmissão destes cassetes gênicos para a prole. Também estão sendo realizadas reações de PCR com o DNA genômico extraído de todos os animais nascidos dos ovos microinjetados para a detecção da presença das construções. Após a puberdade estes peixes serão colocados em reprodução para o teste de transmissão dos genes para a F1 e também se realizará a detecção da expressão da GFP nos testículos através de visualização com o sistema GOOGLES miner's lamp® e também por RT-PCR e imunohistoquímica.