

PROTEÍNAS TESTICULARES DE OVINOS SANTA INÊS E DORPER

Nadiana Maria Mendes Silva¹

Roberta Vianna do Valle²

Ângela Maria Xavier Eloy¹

Francisco Wilson Venâncio dos Santos²

Fernando Henrique M. A. R. de Albuquerque¹

Eduardo Luiz de Oliveira¹

João Ricardo¹

Palavras-chave: eletroforese unidimensional, proteômica, tecido testicular.

PROTEINS OF TESTICULAR SANTA INÊS SHEEP AND DORPER

ABSTRAT

The characterization and identification of variables can influence the reproductive performance of the animal, whether reproductive or productive. The study of proteomics is an important tool for unveiling some of these physiological processes. The objective of this study was to identify the different protein bands present in testicular tissue of Dorper and Santa Inês sheep breeds. The experiment was conducted at Embrapa Sheep and Goats, Sobral, state of Ceará, Brazil. Seventeen sheep were slaughtered (seven Santa Inês and ten Dorper, aged between five and six months), for testicular tissue collection. The protein bands were identified by one-dimensional SDS-PAGE electrophoresis on polyacrylamide gel at 12.5%. There was a variation from 8 to 21 bands between the breeds, from 8 to 12 in Dorper breed, and from 17 to 21 in Santa Inês. The bands of molecular mass 20, 45, 52, 55, 66, 72, 90, 99, 116 and 134 kDa were identified in both analyzed breeds, with 80 bands, 110 and 124 kDa found only in the Dorper breed and the bands 22, 26, 30, 32, 36, 40 and 42 kDa found in Santa Inês. Santa Inês sheep showed a greater number of protein bands of the testis compared to Dorper. This identification will support further studies in molecular biology.

Keywords: dimensional electrophoresis, proteomic, testicular tissue.

INTRODUÇÃO

A eficiência reprodutiva é o principal fator para o aumento da lucratividade do rebanho, sendo a taxa de fertilidade, em grande parte, influenciada pelo macho. O conhecimento sobre a bioquímica espermática e os estudos relacionados aos seus componentes representam uma ferramenta importante para o conhecimento da fertilização, podendo variar de acordo com a raça, localização geográfica e época do ano. A biologia molecular na área da reprodução animal traz novas ferramentas para o melhoramento genético, por meio da utilização de marcadores bioquímicos em líquidos orgânicos que demonstrem o potencial genético de um animal, cuja seleção de genótipos superiores, para determinadas características reprodutivas, possa ser incrementada (1).

As proteínas que participam dos processos reprodutivos influenciam no equilíbrio osmótico e na inibição imunológica, especialmente enzimas catalíticas, também estão

¹ Embrapa Caprinos e Ovinos. Estrada Sobral/Groaíras, km 04, Caixa postal 145, Sobral –CE. CEP: 62010-970

² Universidade Estadual Vale do Acaraú/Embrapa. Av. Universidade S/N, Sobral – CE. *Autor para correspondência: betadovalle@yahoo.com.br

envolvidas no metabolismo espermático (2), tem ação bactericida, neutralizam metabólitos espermáticos e são responsáveis por aumentar a viabilidade espermática em carneiros (3). Portanto, este estudo molecular objetivou identificar as bandas protéicas presentes no tecido testicular dos ovinos das raças Santa Inês e Dorper.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na fazenda sede da Embrapa Caprinos e Ovinos, localizada no município de Sobral, Ceará, na região semiárida do Nordeste, à 3°42' de latitude Sul e 40°21' de longitude Oeste, e uma altitude de 83 metros. Foram abatidos 17 ovinos, sendo sete Santa Inês e dez Dorper, com idade entre cinco e seis meses. O tecido testicular (100 µg) foi homogeneizado em 250 mM de EDTA e 10 mM de Tris-EDTA, pH 7,4 e centrifugadas a 1.500 rpm x 10 min. O precipitado foi ressuspensão em 176 mM de KCl, 10 mM de Tris-HCL e 2 mM de EDTA, pH 7,2. A proteína total foi analisada pelo método Bradford (4). Utilizou-se a eletroforese unidimensional (SDS-PAGE a 12%) para separação das bandas protéicas. Para captura da imagem esses géis foram escaneados e analisados usando-se o software Bio Doc-IT-LS[®] 6.0 and VisiDoc-It, Gel Documentation System da UVP, o qual determina a densidade óptica das bandas protéicas expressa em pixels e quantifica em percentagem relativa ao total da amostra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se uma variação de oito a 21 bandas entre as raças, sendo de oito a 12 na raça Dorper e de 17 a 21 na raça Santa Inês. As bandas de massa molecular 20, 45, 52, 55, 66, 72, 90, 99, 116 e 134 kDa foram identificadas nas duas raças analisadas, sendo as bandas 80, 110 e 124 kDa encontradas apenas na raça Dorper e as bandas 22, 26, 30, 32, 36, 40 e 42 kDa na raça Santa Inês.

Barrios et al. (5) afirmaram que a banda de 20 kDa encontrada em seu experimento poderia ser responsável pela reconstituição das características de permeabilidade da membrana do espermatozóide. A banda de 55 kDa foi identificada por diversos autores como sendo a osteopontina (6). Em búfalos uma proteína com esse peso molecular foi relacionada à viabilidade do sêmen fresco (7) e em touros a alta fertilidade (8). De acordo com Moura (9), esta proteína participa também na interação entre espermatozoides e oócito durante a fertilização.

Oberst et al. (10) identificaram uma banda protéica de massa molecular de 66 kDa, como sendo a albumina, envolvida com a extração do colesterol da membrana plasmática que irá ocorrer em áreas restritas da membrana, promovendo um deslocamento dos fosfolipídeos causando um re-arranjo de sua arquitetura (11).

CONCLUSÃO

Os ovinos da raça Santa Inês possuem um maior número de bandas protéicas identificadas no testículo que os da raça Dorper. A identificação das proteínas presentes nos testículos nos dará suporte para estudos posteriores na área de biologia molecular.

REFERÊNCIAS

1. Roncoletta M. Perfil em SDS-PAGE das proteínas de espermatozoides e plasma seminal relacionados com a congelabilidade de sêmen de touros. 109p. [Dissertação] – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. 1999.
2. Shivaji S, Sheit KH, Bhargava PJ. Proteins of seminal plasma. New York: J.H. Willey and Sons, 1990.

3. Graham JK. Effect of seminal plasma on the motility of epididymal and ejaculat spermatozoa of the bull during the cryupreservation process. *Trerilog.* 1999; 41; 1151-62.
4. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quatitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analit Biochem.* 1976; 72: 248-54.
5. Barrios B, Pérez-Pé R, Gallego M, Tato A, Osada J, Muiñoblanco T, Cebrián-Pére, JA. Seminal plasma proteins revert the cold-shock damage on ram sperm membrane. *Biol Reprod.* 2000; 63: 1531- 37.
6. Cancel AM, Chapman DA, Killian GJ. Osteopontin is the 55-kilodalton fertility-associated protein in Holstein bull seminal plasma. *Biol Reprod.* 1997; 57; 6; 1292-301.
7. Asadpour, R. et al. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of buffalo bulls seminal plasma proteins and their relation with semen freezability. *Anim Reprod Science.* 2007; 102; 308 – 13.
8. Killian GJ, Chapman DA, Rogowski LA. Fertility-associated proteins in Holstein bulls seminal plasma. *Biol Reproduction.* 1993; 49; 1202-7.
9. Moura AA. Seminal plasma proteins and fertility indexes in the bull: the case for osteopontina. *Anim Reprod.* 2005; 2(1): 3-10.
10. Oberst ER, Jobim MIM, Cimarosti HI, Souza DO, Salbego CG, Wald B, Mattos RC. Imunoidentificação de albumina e osteopontina no plasma seminal de reprodutores taurinos e zebuínos. *Semina Ciênc Agrárias.* 2002; 23; 1: 21-8.
11. Flesch FM, Gadella BM. Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in process of fertilization. *Biochem Bioph Acta.* 2000; 1469; 197-235.