

Eletróforese bidimensional da membrana plasmática de espermatozoides caprinos

(*Bidimensional electrophoresis of the plasmatic membrane of goat spermatozoa*)

D.O. Santos¹, A.E.D.F. Silva², A.A. Simplicio³, E.A.R. Vasconcelos⁴, F.A.P. Campos⁴

¹Médico Veterinário, Embrapa Caprinos; ²FMVZ-UNESP; ³UFERSA; ⁴UFC - diones@cnpcembrapa.br

Introdução

A eletróforese bidimensional (2-DE) separa proteínas em duas dimensões pelo ponto isoelétrico (pI) e o peso molecular (kDa), em gel de poliacrilamida. As proteínas aparecem sob forma de *spots* (pontos). Este estudo buscou o perfil protéico da membrana plasmática dos espermatozoides congelados de caprinos, pela 2-DE. E, ser usada como marcador de congelabilidade na seleção precoce de doadores de sêmen.

Material e Métodos

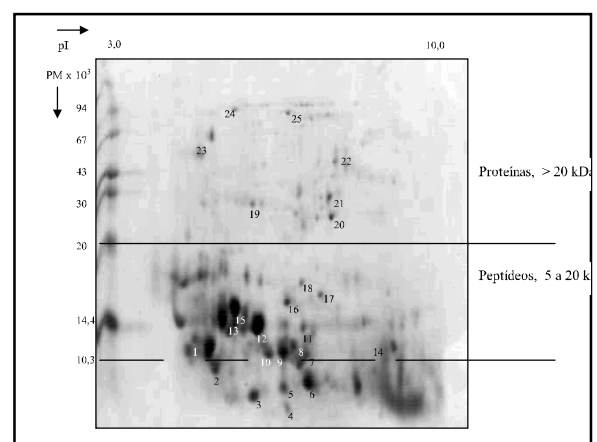
O sêmen foi colhido de seis caprinos da raça Anglo-nubiana, em vagina artificial e congelado. As proteínas foram obtidas de acordo com BERKELMAN e STENSTED (1998), com tampão de lavagem *Tris-Cloreto (TC)*, pH 7,4 para remoção do diluidor e crioprotetor, e o tampão de extração, o *TC-Triton X 100*, a 0,2%, e tratado com Ácido tricloroacético (TCA), a 10%. Os spots separados no gel SDS-PAGE a 15% são mostrados na Figura 1, devidamente enumerados.

Resultados e Discussão

A 2-DE revelou a presença de 25 *spots* de 5,7 a 65,4 kDa e pI de 4,6 a 8,7, consideradas como: peptídeos, as inferiores a 20 kDa e como proteínas, as 30 a 94 kDa. O marcador de peso molecular foi de 14.400 a 94.000 daltons. Os peptídeos, 8,4 e 10,3 kDa são semelhantes aqueles de LIMA DIAS (2000), e são correlacionados com a motilidade de 70 a 80%. Esses peptídeos, no sêmen congelado, provavelmente, atuam de forma inversa e estão associados à queda da motilidade na pós-descongelação. A abundância de proteínas espermáticas de baixo peso molecular evidenciada neste estudo poderá ser responsável pela baixa fertilidade, conforme relatam UNANIAN et al. (2001) quanto à presença de proteínas de baixa massa molecular como a baixa fertilidade, em bovinos da raça Nelore. Apesar destes achados mais estudos são necessários para melhor caracterizar o papel das proteínas espermáticas na congelabilidade do sêmen.

Proteínas de membrana dos espermatozoides descongelados de caprinos da raça Anglo-nubiana.

Nº Spot	Peso Mol. (kDa)	(pI)
1, 8 e 14	10,3	4,6 a 8,7
2	8,4	4,7
3	6,4	5,2
4	5,7	6,3
5	6,9	6,1
6	8,1	6,7
7 e 10	10,5	5,7 a 6,7
9	10,0	6,2
11	11,8	6,6
12 e 13	12,2	5,0 a 5,6
15	13,6	5,2
16	14,1	6,3
17	14,5	7,0
18	16,6	6,6
19	38,3	5,6
20	26,8	7,3
21	31,3	7,2
22	36,4	6,7
23	64,2	4,6
24	65,4	5,5
25	61,3	6,5



Referências bibliográficas

- Berkelman, T., Stenstedt, T. 2-D electrophoresis: using immobilized pH gradients, principles & methods. Piscataway: Amersham Pharmacia Biotech, 1998. 50p.
- Lima Dias, A. Estudos morfofisiológicos de componentes protéicos para caracterizar diferenças entre espermatozoides do ejaculado e epidídimo, em bovinos. 2002. 82p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Unanian, M.M., Bloch Junior, C., Silva, A.E.D.F. Proteínas de baixa massa molecular do plasma seminal de bovinos (*Bos indicus*) indicadas pelo método MALDI-TOF/MS. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38., 2001, Piracicaba. Anais... Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001. CD-ROM.

Palavras-chave: Caprino, proteína, congelação, fertilidade.

Keywords: Goat, protein, congelation, fertility.