

PRODUÇÃO DE ANTICORPOS POLICLONAIS CONTRA A PROTEÍNA ÁCIDA DO FLUIDO SEMINAL BOVINO (ASFP)

Ana Claudia Ramos Berreta¹; Maria Inês Mascarenhas Jobim²; Ivan Cunha Bustamante Filho²; Ricardo Macedo Gregory³; Rodrigo Costa Mattos³.

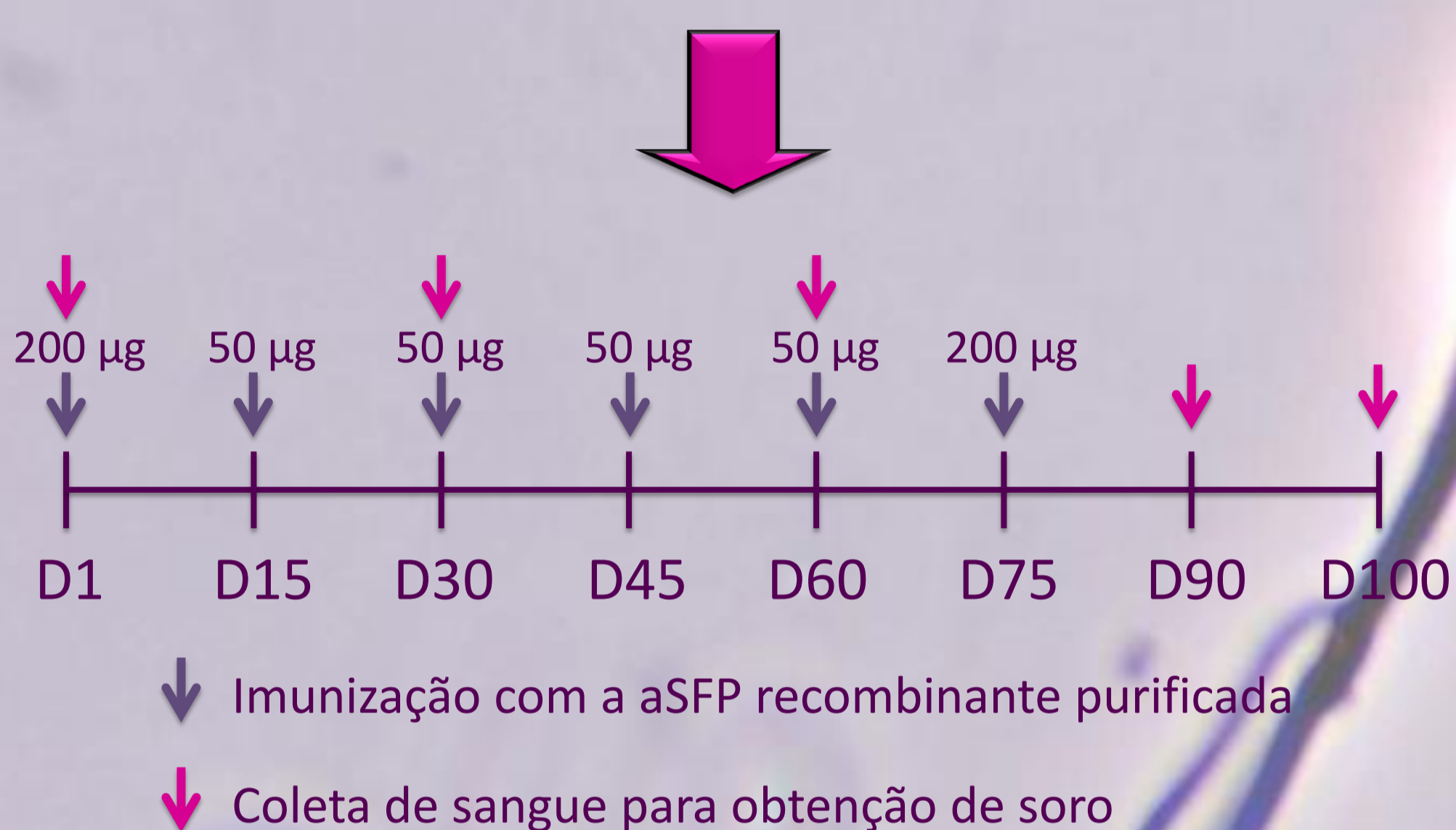
¹Bolsista PIBIC, UFRGS, anaberreta@hotmail.com; ²Laboratório de Tecnologia de Sêmen e Proteínas na Reprodução Animal, Departamento de Patologia Clínica, FAVET, UFRGS; ³REPROLAB, Departamento de Medicina Animal, FAVET, UFRGS.

INTRODUÇÃO

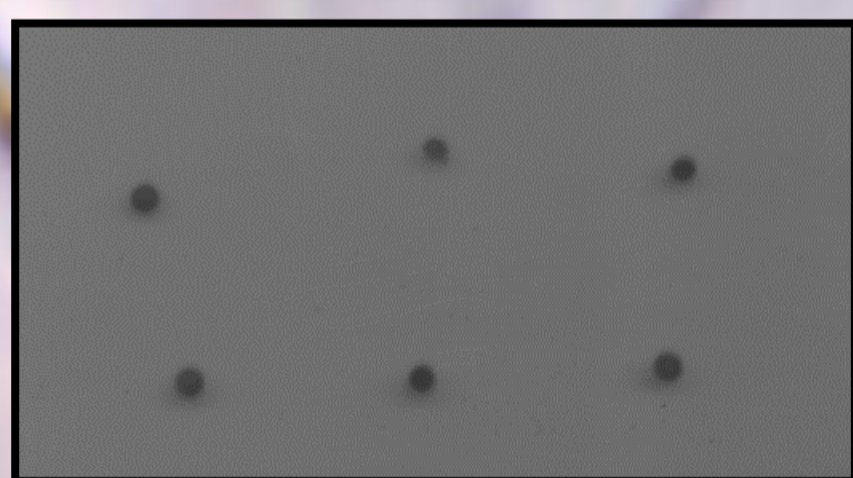
A moderna indústria bovina em todo mundo é baseada na utilização da inseminação artificial com sêmen congelado. O sucesso na concepção e nos benefícios econômicos desta técnica depende da viabilidade do sêmen criopreservado para fertilização do oócito (WATSON, 2000). Entretanto, existem touros de alto valor zootécnico que mostram dificuldade para a criopreservação seminal, apesar do quadro espermático normal quanto aos aspectos físicos e morfológicos. Jobim et al. (2004), a partir de estudos da proteômica do fluido seminal bovino, sugeriram a aSFP como uma das proteínas possíveis marcadoras da alta congelabilidade do sêmen. A aSFP é produzida principalmente na vesícula seminal e na ampola e liga-se à superfície do espermatozoide ejaculado. A mesma tem atividade antioxidante, colaborando na manutenção de membranas plasmáticas celulares íntegras e funcionais (MOURA et al., 2007) e na inibição da capacitação prematura (RIVLIN et al., 2003). Bustamante Filho (2010), através da tecnologia de DNA recombinante, clonou, expressou e purificou a aSFP. O objetivo deste trabalho foi produzir anticorpos policlonais contra a aSFP, com essa tecnologia será possível estudar vias de sinalização celular da mesma, auxiliando na compreensão do seu papel na congelabilidade do sêmen. Ainda, viabilizar-se-á o desenvolvimento de métodos para a quantificação da aSFP em amostras de sêmen, oportunizando a sua aplicação comercial.

MATERIAL E MÉTODOS

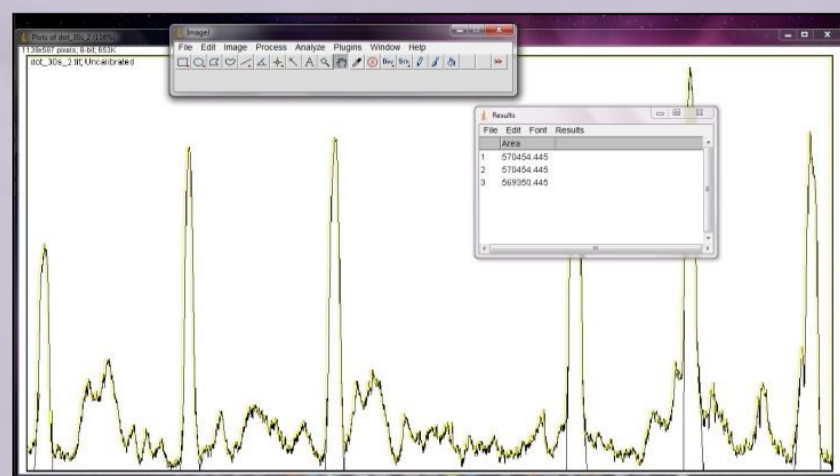
2 COELHOS DA RAÇA NOVA ZELÂNDIA



AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE:
DOT BLOT



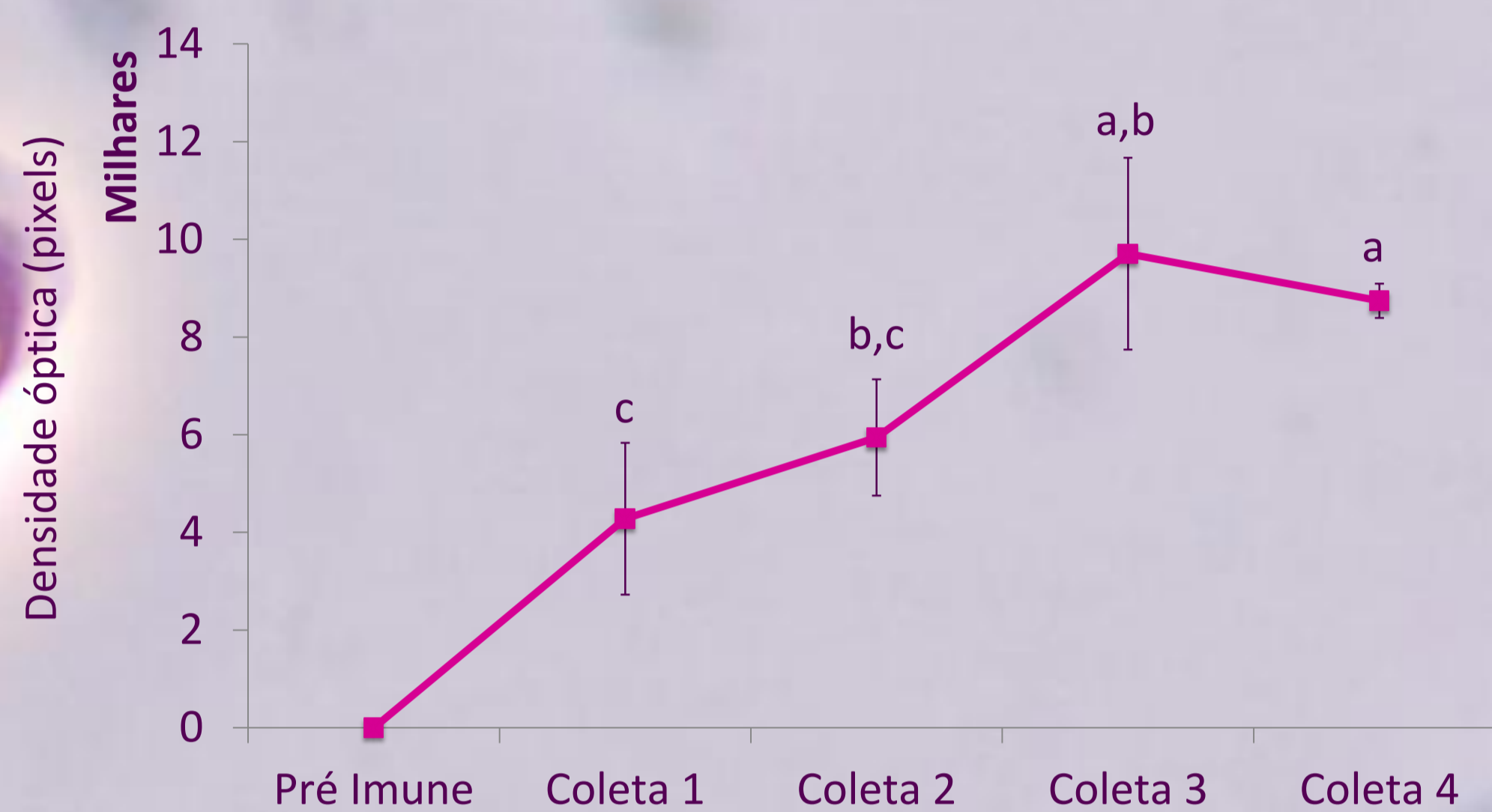
BIOINFORMÁTICA: QUANTIFICAÇÃO DA DENSIDADE ÓPTICA DOS DOTS SOFTWARE IMAGEJ



ANÁLISE ESTATÍSTICA

ANOVA COM MEDIDAS REPETIDAS E TESTE TUKEY PARA COMPARAÇÃO ENTRE MÉDIAS - NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DE 5%

RESULTADOS



CONSIDERAÇÕES

Os resultados demonstram que os coelhos apresentaram satisfatória resposta imune à proteína inoculada a partir da coleta 2, mantendo o nível de produção de anticorpos policlonais nas coletas 3 e 4. As perspectivas do trabalho são testar o soro policlonal anti-aSFP contra amostras de plasma seminal bovino pelo método de Western Blot.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BUSTAMANTE FILHO, I. C. **Clonagem, expressão e purificação de proteínas do plasma seminal bovino relacionada a alta congelabilidade do sêmen**. Porto Alegre: UFRGS, 2010, 117 p. Dissertação (Doutorado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, UFRGS, Porto Alegre, 2010.
- JOBIM, M. I. M.; OBERST, E. R.; SALBEGO, C. G.; SOUZA, D. O.; WALD, V. B.; TRAMONTINA, F.; MATTOS, R. C. Two-dimensional polyacrilamide gel electrophoresis of bovine seminal plasma proteins and their relation with semen freezability. *Theriogenology*, v. 61, p. 255-266, 2004.
- MOURA, A. A.; CHAPMAN, D. A.; KOC, H.; KILLIAN, G. J. A comprehensive proteomic . Analysis of the accessory sex gland fluid from mature Holstein bulls. *Animal Reproduction Science*, v. 98, p. 169-188, 2007.
- RIVLIN, J.; MENDEL, J.; RUBINSTEIN, S.; ETKOVITZ, N.; BREITBART, H. Role of hydrogen peroxide in sperm capacitation and acrosome reaction. *Biology of Reproduction*, v. 70, p.518-522, 2004.
- WATSON, P. F. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal Reproduction Science*, v 60-61, p. 481-492, 2000.

APOIO