

O plasma seminal é o produto da secreção do epidídimo e das glândulas sexuais acessórias. As proteínas do plasma seminal exercem múltiplos efeitos sobre a maturação e função espermática, atuando também no sistema genital feminino. As proteínas ricas em cisteína (CRISP) atuam na interação oócito-espermatozóide, no transporte espermático e defesa uterina e estão associadas à congelabilidade do sêmen. A CRISP-3 é um dos principais componentes do plasma seminal equino, com alta expressão na ampola e vesícula seminal. Contudo, sua expressão pelo garanhão é bastante variável acarretando em diferentes níveis de fertilidade entre indivíduos. O presente experimento tem como objetivo produzir uma forma recombinante bioativa da proteína CRISP-3 equina em *Escherichia coli*. A partir de vesículas seminais e ampolas obtidas de um garanhão em abatedouro se procedeu a extração de RNA total. Em seguida foram criadas bibliotecas de cDNA correspondente à proteína CRISP-3 através da técnica de RT-PCR. Tomando como base a sequência descrita para a CRISP-3 equina (GeneBank: NM_001081874.1) foram sintetizados os *primers forward* e *reverse*. Foi obtido um amplicon de aproximadamente 760 pb, tamanho compatível com o gene alvo da CRISP-3. Este amplicon foi clonado em vetor pCR2.1-TOPO e usado na transformação de *E. coli* JM109 termocompetentes. O *screening* das colônias obtidas resultou na localização e obtenção de um clone recombinante contendo o gene da CRISP-3. Até o presente momento, 2 TOPOs foram construídos: pTOPO-CRISP e pTOPOkCRISP_x. Paralelamente está em andamento a construção do plasmídeo pET23a para inserção dos TOPOs. As próximas etapas envolvem a ligação desses genes formando um plasmídeo, a inserção desses plasmídeos em bactérias *E. coli* e a expressão da forma recombinante bioativa da proteína CRISP-3.