

212

**ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DA PROTEÍNA CRISP3 DO PLASMA SEMINAL DE EQUINOS.** *Marcia Rodrigues Trein, Cristina Botelho Messias, Markus Berger, Ivan Cunha Bustamante Filho, Rodrigo Costa Mattos, Maria Inês Mascarenhas Jobim, Eduardo Pandolfi Passos, Jorge Almeida Guimarães, Elizabeth Obino Cirne Lima (orient.) (UFRGS).*

O plasma seminal é resultado da mistura de secreções de várias glândulas acessórias. É uma solução quimicamente complexa. Relatos sugerem que no plasma seminal são encontradas proteínas que influenciariam na fertilidade do macho. Em um estudo recente, com eletroforese bidimensional, foram identificadas duas bandas proteicas relacionadas à fertilidade de reprodutores. Uma relacionada à baixa fertilidade e outra, à alta fertilidade. A banda encontrada nas amostras dos garanhões de alta fertilidade corresponde a uma proteína de 20-25 kDa; pI 8, 5-8, 7, que pode corresponder à CRISP3, cuja presença no plasma seminal eqüino foi descrita por Schambony et al. (1998). Três amostras de sêmen de um garanhão, que sabidamente expressa a proteína análoga à CRISP3 no plasma seminal, foram coletadas pelo método de vagina artificial, e centrifugadas a 1500g por 15 minutos. Após a centrifugação, o plasma seminal obtido foi acondicionado e armazenado em nitrogênio líquido. Posteriormente as amostras foram descongeladas e recentrifugadas, a 10.000g por 60 minutos a 4°C. O sobrenadante resultante desta centrifugação foi acondicionado em criotubos e armazenado novamente em nitrogênio líquido. As amostras resultantes serão submetidas a um processo de purificação (precipitação e gel filtração) a fim de se obter uma fração proteica oriunda do plasma seminal, rica na proteína análoga à CRISP3. Posteriormente, as frações serão submetidas à análise por eletroforese bidimensional, a fim de comprovar a eficiência do processo de purificação. Esta é uma etapa fundamental para a continuidade do projeto, que visa a produção de anticorpos monoclonais, que reconheçam a proteína semelhante à CRISP3 presente no plasma seminal de eqüinos.