

# Comparação do proteoma dos espermatozoides da cauda do epidídimo e do ejaculado de garanhões

Juliana Pedroso Mendes\*, Laíza Sartori de Camargo, Rubia Alves Schmith, Patricia de Mello Papa, Luiz Roberto Pena Andrade Junior, Luis Fernando Mercês Chaves Silva, Fabiana Ferreira de Souza, Frederico Ozanam Papa, Priscilla Nascimento Guasti

Universidade Estadual Paulista(UNESP), Areiópolis, SP, Brasil

\*Autor correspondente  
e-mail: julipm2004@hotmail.com

## Resumo

Após a espermatogênese são observadas importantes modificações nos domínios de membrana da célula espermática, e estas etapas ocorrem em completa ausência de expressão proteica. As modificações são realizadas, em sua maioria, por proteínas contidas no meio que cercam a célula espermática, seja no fluido epididimário, no plasma seminal ou nas secreções do trato reprodutor feminino, promovendo a reorganização de sua estrutura. Em vista disso, o objetivo deste estudo foi avaliar o proteoma da membrana plasmática de espermatozoides do epidídimo e do ejaculado de garanhões. Foi colhido um ejaculado de 11 garanhões. Uma semana após as colheitas, os animais foram submetidos à orquiectomia bilateral e os espermatozoides da cauda do epidídimo foram recuperados pela técnica de fluxo retrógrado. Para a solubilização das proteínas espermáticas do epidídimo e do ejaculado foi utilizado 0,5% (v/v) de nonidet P-40 em TRIS 50 mM contendo inibidores de proteases e sonicação em banho de gelo. A quantificação proteica foi realizada pelo método do ácido bicinonínico (BCA). As proteínas foram digeridas em 20 ng/ $\mu$ L de tripsina (Promega; 1:50 enzima substrato), dessalinizadas em colunas de fase reversa C18 (SepPack, Waters) e identificadas por espectrometria de massas Nano-LC ESI QToF (NanoAcquity, Waters). Os espectros foram adquiridos com o software MassLynx v.4. e pesquisados contra banco de dados Mammalia, obtido no Uniprot, utilizando o software Mascot engine v.2.3.01 (Matrix Science). Os dados gerados foram analisados quanto à ontologia gênica, para classificação da função molecular e processo biológico, no software Scaffold Q+ (Proteome Software). Foram identificadas 49 proteínas (62 espectros) e 43 proteínas (62 espectros) nas amostras do extrato proteico de espermatozoides epididimários (EP) e do ejaculado (EJ), respectivamente, incluindo proteínas envolvidas no processo de fertilização (*izumo sperm egg fusion*, *sperm equatorial segment*, *zona pellucida-binding protein*). Nas amostras do extrato EP e EJ, as principais funções moleculares foram relacionadas a atividades catalíticas e propriedades de ligação. O total de 29 e 26 proteínas foram



identificadas exclusivamente no extrato de EP e EJ, sendo a maioria dos processos biológicos relacionados aos processos celulares, regulação biológica e processos metabólicos. Das proteínas identificadas apenas no extrato EJ, cinco são provenientes do plasma seminal, tais como HSP-1, CRISP-3, clusterina, BSP-A3, SOD, indicando que estas se ligam à membrana plasmática durante a ejaculação. A HSP-1 corresponde a 70-80% das proteínas do plasma seminal e foi identificada como a proteína mais abundante no extrato EJ, exercendo funções relacionadas ao processo de capacitação espermática. Em conclusão, a comparação do extrato proteico de espermatozoides do ejaculado e do epidídimo evidenciou proteínas que afetam diretamente/ indiretamente o processo de capacitação espermática e fertilização, revelando um complexo proteoma funcional. Ainda, o perfil proteômico do extrato EJ é altamente modificado durante a ejaculação, devido a interação da membrana plasmática do espermatozoide com as proteínas do plasma seminal.

**Palavras-chave:** Proteínas. Fertilidade. Equino.

Agradecimentos: à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro.