

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
Departamento de Ciencias Pecuarias



**AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS DEL PLASMA
SEMINAL DE CHIVO (*Capra hircus*) POR CROMATOGRAFÍA DE AFINIDAD
A FIBRONECTINA**

**MEMORIA DE TÍTULO PRESENTADA A
LA FACULTAD DE CIENCIAS
VETERINARIAS DE LA UNIVERSIDAD
DE CONCEPCIÓN PARA OPTAR AL
TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO**

CATALINA MARCHANT ABARCA

CHILLÁN – CHILE

2011

I. RESUMEN

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS DEL PLASMA SEMINAL DE CHIVO (*Capra hircus*) POR CROMATOGRAFÍA DE AFINIDAD A FIBRONECTINA

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF GOAT (*Capra hircus*) SEMINAL PLASMA PROTEINS USING FIBRONECTIN AFFINITY CHROMATOGRAPHY

Con el propósito de aislar y caracterizar fracciones proteicas del plasma seminal (PS) de chivo, eyaculados de 5 chivos sexualmente maduros (mayor de 6 meses) fueron colectados por vagina artificial. El plasma seminal fue centrifugado, posteriormente precipitado con etanol frio y nuevamente centrifugado. El pellet obtenido de la última centrifugación, fue resuspendido en buffer fosfato salino (PBS) y transferido a una columna de Gelatina-Sepharosa para capturar proteínas que presenten dominio de Fibronectina tipo II. La columna fue lavada con PBS y eluída con una solución de urea. Las fracciones proteicas recogidas fueron concentradas y luego cuantificadas por el método de Bradford. Para determinar el perfil proteico y la masa molecular fue realizada una electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE). La cromatografía muestra que se obtuvieron 2 fracciones de proteínas, las que se denominaron A y B. La fracción B reveló la presencia de 4 bandas proteicas, de diferente peso molecular, correspondiendo a las proteínas con dominio de fibronectina tipo II, con masas moleculares de 14 kDa, 15 kDa, 20 kDa y 22 kDa, que representaron un 8,1% del total de proteínas del PS. Las 4 proteínas con dominio de fibronectina tipo II aisladas, podrían utilizarse para estudios adicionales en biología y tecnología espermática.

Palabras clave: proteínas seminales, gelatina-sepharosa, caprinos, fracciones proteicas.

II. SUMMARY

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF GOAT (*Capra hircus*) SEMINAL PLASMA PROTEINS USING FIBRONECTIN AFFINITY CHROMATOGRAPHY

In order to isolate and characterize protein fractions of goat seminal plasma (PS), ejaculates from 5 sexually mature (greater than 6 months) bucks were collected by artificial vagina seminal plasma was centrifuged then precipitated with cold ethanol and centrifuged again. The pellet was suspended in phosphate buffered saline (PBS) and transferred to gelatin-sepharose affinity columns to capture proteins with fibronectin type II domain. Columns were washed with PBS, eluted with urea solution and the protein fractions were then concentrated and quantified by Bradford method. To determine the protein profile and molecular masses, these fractions were subjected to electrophoresis using polyacrylamide gels (SDS-PAGE). The results show that affinity chromatography resulted in 2 fractions of proteins, called A and B fractions. The fraction B revealed the presence of 4 protein bands corresponding to proteins with fibronectin type II domain, with molecular masses of 14 kDa, 15 kDa, 20 kDa and 22 kDa, which represented 8.1% of the total protein of PS. Additional studies are required to assess the role of these proteins in sperm function and fertilization.

Keywords: seminal proteins, gelatin-sepharose, goats, protein fractions.