



## CLONAGEM, EXPRESSÃO E CARACTERIZAÇÃO DA PROTEÍNA RICA EM GLICINA DO CARRAPATO *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Lauren Dornelles Dipp<sup>1</sup>, Carlos Alexandre Sanchez Ferreira<sup>1</sup> (orientador)

<sup>1</sup> *Laboratório de Imunologia e Microbiologia, Faculdade de Biociências, PUCRS*

### **Resumo**

A criação de gado bovino é hoje uma atividade essencial do setor primário em diversos países. Parasitas, principalmente carrapatos, são vetores de doenças que afetam os bovinos, resultando em danos na economia da população que depende desse comércio. Na tentativa de controlar infestações, criadores utilizam cada vez mais acaricidas químicos, que prejudicam o meio ambiente e a saúde dos animais, devido à resistência que os parasitas adquirem.

Recentemente, muitas moléculas candidatas a comporem uma vacina foram caracterizadas a partir das glândulas salivares dos carrapatos por possuírem propriedades antiplaquetárias, anticoagulantes, imunossupressoras e anti-inflamatórias. Estas substâncias são inseridas na corrente sanguínea do bovino durante o ectoparasitismo, modulando o sistema imune do hospedeiro a fim de facilitar a hematofagia; caso o carrapato esteja infectado por algum vírus ou protozoário, esses se alojam na glândula salivar sendo transmitidos durante a alimentação.

Já é comprovada a eficácia de vacinas como agente controlador de parasitismo, principalmente as produzidas a partir de extrações da glândula salivar do carrapato. Um componente em potencial para a vacina são as proteínas ricas em glicina, caracterizadas pela presença de repetitivas seqüências de glicina. Essas moléculas, além de estarem presentes nas glândulas salivares dos carrapatos, compõem o citoesqueleto de células eucarióticas, apresentando atividade semelhante à citoqueratina; e apresenta-se no tecido vascular e no sistema imune de vários vegetais.

Neste trabalho, foi isolado o cDNA da proteína rica em glicina de glândulas salivares, especificamente, de fêmeas ingurgitadas da espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, amplificando-o por RT-PCR e sendo posteriormente clonada com o Kit One Shot<sup>®</sup> MAX Efficiency<sup>™</sup> DH10B<sup>™</sup> T1 Phage Resistant Cells. A expressão, com diferentes concentrações de IPTG como indutor, foi feita com o Kit Champion<sup>™</sup> pET101 Directional TOPO<sup>®</sup> Expression Kit with BL21 Star<sup>™</sup> (DE3) One Shot<sup>®</sup> e verificada em gel de poliacrilamida 18% e 15% e transferido para uma membrana de nitrocelulose. A membrana foi posteriormente corada com Ponceau e imersa em solução Blotto 5% para bloqueio, sendo submetida aos anticorpos anti-histidina e anti-mouse para marcação pelo método de fosfatase alcalina. Com a proteína expressa e posteriormente purificada, faremos testes de hipersensibilidade imediata e tardia em bovinos (*Bos taurus*) infestados, produziremos anticorpos policlinais monoespecíficos contra a proteína e testaremos o reconhecimento por animais previamente infestados, como formas iniciais de validação do potencial imunogênico e protetor contra o carrapato da proteína rica em glicina para uma futura vacina.

Financiamento: CNPq – PIBIC – INCT-Entomologia Molecular.