



Produção, purificação e caracterização imune da região C-terminal recombinante de uma proteína salivar do carrapato *Rhipicephalus microplus*

Peterson Vargas Dos Santos¹, Bruna Ferreira Leal¹, Carlos Alexandre Sanchez Ferreira¹ (orientador)

1Laboratório de Imunologia e Microbiologia, Escola de Ciências, PUCRS

Resumo

Rhipicephalus microplus é um importante ectoparasita de rebanhos bovinos e sua ação espoliativa gera prejuízos que chegam a 3,24 bilhões de dólares no Brasil por ano. O controle deste carrapato tem sido dependente do uso de acaricidas, porém isolados resistentes a todas as drogas já foram relatados, além de apresentarem alto custo, contaminarem a mão-de-obra na aplicação destes produtos e poderem permanecer resíduos nos alimentos de origem bovina e no meio ambiente. Desta forma, torna-se necessária a procura de outras formas de controle como o desenvolvimento de vacinas. As proteínas ricas em glicinas (PRGs) são uma superfamília de proteínas caracterizada por repetidos aminoácidos glicina ao longo de sua extensão. Nos carrapatos, PRGs têm sido encontradas em uma estrutura conhecida como cone de cimento. Esta estrutura é formada por proteínas secretadas na saliva e depositadas ao redor das peças bucais do carrapato, portanto têm grande importância na fixação e na manutenção do carrapato no hospedeiro, principalmente pela modulação do sistema imune. Assim, essas proteínas aparecem como potenciais antígenos a serem estudados contra parasitos. Neste trabalho foi amplificado a sequência codificadora de DNA correspondente a uma região da PRG e inserida no vetor plasmidial PCR-blunt utilizando o Kit “Zero blunt PCR Cloning” (Invitrogen). O plasmídeo recombinante resultante foi incorporado na cepa Top 10 da bactéria *Escherichia coli* por eletroporação.

Como perspectiva espera-se a clonagem da sequência codificadora da região C-terminal da PRG no vetor pET23a (ou pET5a) e sua transformação em cepas de *E. coli* (BL21). A expressão da proteína recombinante será obtida com cultivo em meio Luria-

Bertani (LB) contendo ampicilina (50mg/mL) e induzida com IPTG 1mM. A purificação parcial da respectiva proteína recombinante será realizada por cromatografia de afinidade utilizando a coluna HisTrap (GE Healthcare) de acordo com as instruções do fabricante. A pureza das proteínas será monitorada por SDS-PAGE 15% corado com Azul de Coomassie (Sigma-Aldrich). A identidade da proteína recombinante será verificada por Western-blot. A proteína recombinante parcialmente purificada será utilizada para avaliar o seu reconhecimento por soros de bovinos previamente infestados por *R. microplus* e seu potencial como imunógeno protetor para estes parasitos.

Palavras-chave

Proteína rica em glicina; Antígeno salivar; *Rhipicephalus microplus*; Relação Carrapato-bovino