

CLONAGEM E EXPRESSÃO DA PORÇÃO MADURA PUTATIVA DE UMA PROTEÍNA SALIVAR DO CARRAPATO *RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS*

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

*Faculdade de Biociências, PUCRS, Laboratório de Imunologia e
Microbiologia*

Resumo

Rhipicephalus microplus é um importante ectoparasito de rebanhos, sua ação espoliativa gera prejuízos que chegam a 3,4 bilhões de dólares americanos no Brasil. O controle deste carrapato tem sido dependente do uso de acaricidas, porém já foram descritos isolados resistentes a todos os princípios ativos comumente utilizados. Além disso, essas drogas representam um sério problema para a saúde e produção animal, tendo alto custo e podendo contaminar a mão-de-obra durante a sua aplicação, além da permanência de 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 salivares têm grande importância na fixação e na manutenção do carrapato no hospedeiro, principalmente pela modulação do sistema imune e hemostático. Assim, essas proteínas aparecem como potenciais antígenos a serem estudados contra parasitos. Neste trabalho realizamos a clonagem e expressão da porção codificadora de uma proteína rica em glicinas salivar de *R. microplus* doravante denominada *RmPRG*. Para tanto, efetuamos a clonagem da sequência codificadora madura da *RmPRG*, previamente isolada por nosso grupo de pesquisa, no vetor procariótico pET23a (Novagen). A sequência codificadora da *RmPRG* foi confirmada por sequenciamento de DNA. A construção recombinante foi inserida na cepa de *E. coli* BL21 e a expressão da proteína recombinante foi obtida com cultivo em meio Luria-Bertani (LB) contendo ampicilina (50mg/mL) e induzida com IPTG 1mM. A purificação parcial da proteína recombinante foi realizada por cromatografia de afinidade utilizando uma coluna HisTrap (GE Healthcare) de acordo com as instruções do fabricante. A pureza das proteínas foi monitorada por SDS-PAGE 15% corado com Azul de Coomassie (Sigma-Aldrich). A identidade da proteína recombinante foi verificada por Western-

blot utilizando anticorpo anti-poli-histidina conjugado com fosfatase alcalina (Sigma-Aldrich). A *RmPRG* recombinante foi testada quanto ao reconhecimento por soros de bovinos naturalmente e experimentalmente infestados, apresentando uma alta heterogeneidade no reconhecimento da proteína entre indivíduos e entre infestações no mesmo indivíduo. A produção e purificação da *RmPRG* recombinante será importante para a futura avaliação do potencial desta como imunógeno, além de possibilitar análises funcionais que auxiliem a elucidar suas funções na fisiologia do parasito.

Palavras-chave: Proteína rica em glicina; Antígeno salivar; *Rhipicephalus microplus*; Relação carrapato-bovino