



Sub-clonagem, expressão e caracterização de módulo aberto de leitura alternativo de proteína salivar rica em glicinas do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Natasha Ruschel Soares, Carlos Alexandre Sanchez Ferreira (orientador)

¹ *Laboratório de Imunologia e Microbiologia - Faculdade de Biociências, PUCRS,*

Resumo

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é o mais importante ectoparasita de rebanhos bovinos. Sua ação causa inúmeros danos aos bovinos, sendo necessário para seu controle o uso de acaricidas que, além de serem tóxicos aos humanos e aos bovinos, geram indivíduos resistentes conforme o tempo de uso. Por isso, torna-se necessária a busca por alternativas, tais como vacinas. Entre os possíveis alvos estão antígenos presentes na saliva do carrapato, que possui propriedades que facilitam a alimentação do parasita. O cDNA correspondente a uma proteína rica em glicina, presente na glândula salivar do carrapato, foi isolado por nosso grupo de pesquisa e sua caracterização é essencial para avaliar se codifica para um antígeno potencialmente protetor, pois proteínas ricas em glicina já foram descritas como protetoras quando testadas como imunógeno em hospedeiros de carrapatos. A partir de análises iniciais, verificou-se a existência de um módulo alternativo de leitura no cDNA isolado. A clonagem e expressão deste módulo alternativo de leitura são importantes para avaliar se um mesmo gene pode codificar proteínas diferentes presentes na saliva do *R. microplus* e, em caso afirmativo, quais suas funções e relevância no relacionamento parasito-hospedeiro. Para a amplificação do cDNA codificante ao módulo alternativo de leitura de uma proteína rica em glicinas, foram desenhados oligonucleotídeos iniciadores diretos e reversos que possuem uma cauda de histidina para a posterior purificação da proteína recombinante. A amplificação do fragmento foi obtida através de PCR com *Pfu* DNA polimerase e verificação em gel de agarose 2% apresentando uma banda correspondente a um fragmento de aproximadamente 360pb. Recentemente foi realizada a reação de clonagem de acordo com o kit Champion™ pET101 Directional TOPO® Cloning, incluindo a posterior

transformação de cepas de *Escherichia coli* Top 10 pelo método de choque térmico. O presente projeto possibilitará um avanço potencial importante para o conhecimento das moléculas salivares envolvidas na interação do carrapato com o hospedeiro bovino, especialmente a sua evasão do sistema imune.

Financiamento: CNPq – FAPERGS – INCT-Entomologia Molecular.