

Dourado T.^{1,2}; Tirloni L. ¹; Termignoni C. ^{1,3}; da Silva Vaz Jr. I. ^{1, 4}

¹ Centro de Biotecnologia (tadeu.dourado@cbiot.ufgrs.br), ² Faculdade de Farmácia, ³ Departamento de Bioquímica, ⁴ Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução

O carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é um ectoparasita hematófago responsável por perdas econômicas significativas na pecuária brasileira devido a problemas como diminuição no ganho de peso dos animais, redução na produção de leite e perda na qualidade do couro. O controle do carrapato é realizado por acaricidas, que resultam em contaminação ambiental, dos produtos derivados de bovinos e, ainda seleção de populações resistentes. O desenvolvimento de vacinas para o controle do carrapato é de grande importância econômica. Duas vacinas mostraram-se viáveis, em Cuba (Gavac) e na Austrália (TickGard), porém não são eficazes nas populações de carrapato presentes em países da América do Sul. O estudo de proteínas que desempenham papéis importantes na fisiologia do parasita pode auxiliar no desenvolvimento de uma vacina.

Materiais e métodos

- A análise em banco de dados de cDNA de *R. microplus* (TIGR) encontrou uma sequência similar a inibidores de serino protease;
- Foram projetados primers para amplificar a região codificante por PCR;
- O amplicon gerado (fig.1) foi clonado em pGEM-T;
- A clonagem foi confirmada por PCR e clivagem com enzima de restrição (fig.2).

Resultados

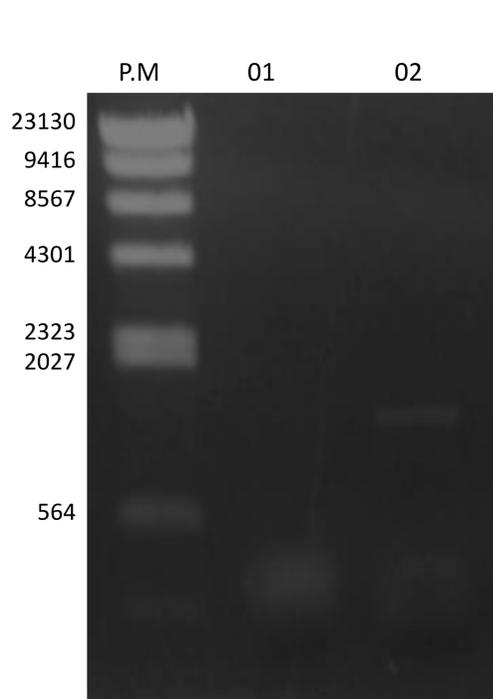


Fig.1- Separação eletroforética em gel de agarose 0,8% dos produtos da PCR. Peso molecular (P.M), intestino (01) e glândula salivar (02).

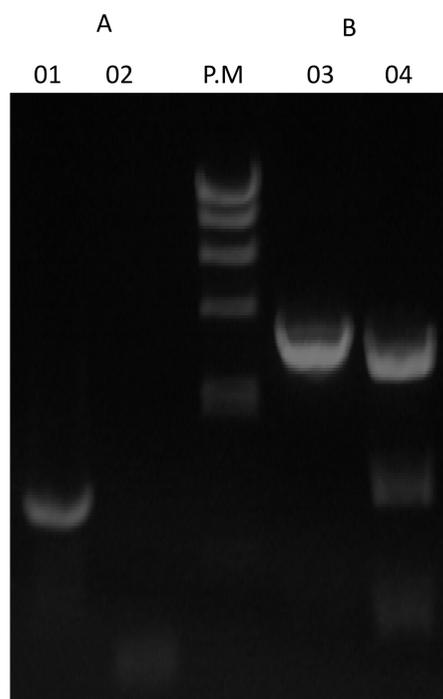


Fig.2- Eletroforese em gel de agarose 0,8%. Confirmação da clonagem : PCR (A) pGEM-T/inserto (01), controle negativo (02); peso molecular (P.M); clivagem com EcoRI (B), pGEM-T (03) e pGEM-T/inserto (04).

```

MLAKFLFLASALAVAHCETDDSTLLARAHNQLAVNLLKELATENPSSNVFFSPTSIA
GMAYLGARGGSESELNSVFGHADVGLTDRSRLLTAYKNLLELSASPNTLDVANMYL
RFPISDSYKQQLREIFDADLRSANFVEDGPRVAAEVNAWVREKTRGKISGILPEGQP
VLFILNAVYFKGTWVTKFDAHRTINKPFLNLGTTEVSKPAMHLKARFPYARVEPLHA
EIPYEGDRFTMVLLPDNATGLAAVRNGLSLAALEDVGSRLSFRDVLQLPKFDMSL
LVPAMKAIGLNSVFGGSADFSGISEAVPLVISDVLHKAAVEVNEEGTIATAVTGLGF
SAHYNPPPIEFTVDHPPIFYIRDRTNRVLFIGEVTNL*
  
```

Fig. 3- Sequência predita de aminoácidos do clone obtido. A caixa vermelha mostra o motivo conservado característico de serpinas (NAVYFKG), sublinhado em vermelho a sequência predita de peptídeo sinal (SignalP3) e sublinhado em azul a sequência consenso do RCL.

Conclusão e perspectivas

A sequência de nucleotídeos do *R. microplus* apresenta homologia com serpinas de outras espécies de carrapato.

A ORF clonada possui 1200 pb, que codificam um peptídeo de 399 aminoácidos com peso molecular estimado de 43,319 kDa e pI de 5,53.

Testes de expressão estão em andamento.

Posteriormente será feita a caracterização da proteína, analisado seu potencial inibitório com relação às serino proteases e feito testes de imunogenicidade.

Apoio financeiro:

