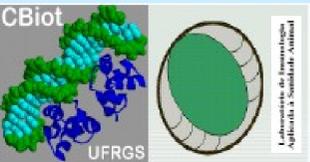


Expressão de um fragmento do receptor de vitelogenina do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*



Klein, A. S.^{1,2}, Seixas, A.¹, Vaz, I.S.^{1,2}, Masuda, A.¹

Centro de Biotecnologia, UFRGS¹, Faculdade de Veterinária, UFRGS²; Porto Alegre, RS, Brasil.
aneliseklein@cbiot.ufrgs.br.



Introdução

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é um artrópode que infesta bovinos, sendo o principal vetor dos patógenos do complexo da tristeza parasitária bovina, causando prejuízos para a pecuária brasileira. O controle desse parasito atualmente é feito principalmente com o uso de acaricidas químicos de variados princípios ativos como organofosforados e avermectinas, método o qual acarreta na seleção de populações resistentes, na contaminação dos produtos de origem animal e na poluição do meio ambiente. Diversos métodos alternativos de controle deste parasita vem sendo estudados. O controle imunológico possui a melhor relação custo-benefício, além de não gerar contaminação nos produtos de origem animal e no ambiente.

O sucesso reprodutivo é um fator crucial para a disseminação de parasitos. A reprodução do *R. microplus* depende da captação pelo ovário de uma hemelipoglicoproteína de reserva, vitelogenina (Vg). Esta proteína presente na hemolinfa das fêmeas é captada por um processo de endocitose mediada por receptor, sendo indispensável à nutrição do embrião. A importância do receptor de vitelogenina (VgR) na reprodução de espécies ovíparas vem sendo observada em vertebrados e invertebrados.

Objetivo

O objetivo do presente trabalho foi clonar o gene e expressar um fragmento deste receptor, para avaliar o uso de fragmentos dessa proteína como antígeno vacinal no controle imunológico do carrapato bovino.

Materiais e métodos

Baseado em sequências conhecidas de VgR de *Demacentor variabilis* e *Haemaphysalis longicornis* foram projetados primers para a clonagem da sequência completa do cDNA do VgR de *R. microplus* (RmVgR). O cDNA do VgR foi clonado em vetor pGEM. Uma região de 1719 pb que codifica um fragmento de 573 resíduos de aminoácidos da região extra-membrana amino-terminal da proteína, foi selecionada para subclonagem no vetor de expressão pET-5a.

Resultados

A expressão em *E. coli* do fragmento do VgR foi testada em diferentes linhagens da bactéria, para estabelecer o protocolo de expressão.

Tabela 1: bactérias e condições testadas para expressão do fragmento

Bactéria	Temperatura	Meio de cultura	Concentração de IPTG (mM)
BL 21 Star (DE3)	37/25°C	SOB/LB	1
BL 21 Codon Plus (DE3) RP	37/25°C	SOB/LB	1
BL 21 Codon Plus(DE3) Ril	37/25°C	SOB/LB	1
BL 21 (DE3) pT-GroE	37/25°C	SOB/LB	1
BL 21 (DE3) C43	37/20/25°C	LB	1,4-1
BL 21 (DE3) C41	37°C	LB	1
BL 21 - SI	37°C	SOB/LB	1
AD494	37°C	LB	1
Rosseta (DE3)	30°C/37°C/25°C	LB	0,4-0,5-0,7-1,0
BL 21 (DE3) Plys S	37°C	SOB/LB	1
BL 21 (DE3) Plys E	37°C	SOB/LB	1

Perspectivas

Novos fragmentos do gene que codifica o VgR serão selecionados a partir de análises de imunogenicidade para clonagem e futuros testes de expressão.