

227

**SUB-CLONAGEM DA BMCL1 EM pCDNA3.** Raquel Hoffmann Panatieri, Elenara Rieger, Aoi Masuda, Itabajara da Silva Vaz Junior (orient.) (UFRGS).

O carrapato *Boophilus microplus* é um ectoparasita bovino e um dos principais responsáveis por prejuízos econômicos. O controle deste carrapato tem sido feito atualmente com o uso de acaricidas. A BmCl1, uma cisteíno proteinase encontrada em células de intestino, tem como função sugerida a degradação de hemoglobina e vitelina, sugerindo sua importância no desenvolvimento do embrião e no processo digestivo. A sub-clonagem foi realizada em pCDNA3, vetor para expressão em eucariotos, partindo do vetor CL1pBLUESCRIPT, contendo o exon da proteinase. A amplificação do material foi realizada por PCR com primers específicos contendo sítios de clivagem para as enzimas BamH1 e Xho1. A reação de ligação foi realizada numa proporção de 1:3 (vetor:inserto) a 16°C por 18 horas. O produto da ligação foi submetido a eletroporação e as células competentes foram plaqueadas em meio LB contendo ampicilina (LBA) e incubados em estufa a 37°C por 18 horas. Foi feito um inóculo com as colônias em LBA que permaneceram em uma incubadora de agitação orbital a 37°C por 18 horas. A extração de DNA foi realizada pelo método de lise alcalina. A presença do cDNA da BmCL1 foi testada por clivagem com as enzimas BamH1 e Xho1 e PCR com primers específicos identificando um inserto de 996bp. Para a confirmação da clonagem o plasmídeo BmCl1pCDNA3 está sendo seqüenciado. A expressão será testada por transfecção em células COS-1. (Fapergs).