

341

CLONAGEM EM VETOR DE EXPRESSÃO EM EUCARIOTO DE UMA CATEPSINA-L DE BOOPHILUS MICROPLUS. Raquel Hoffmann Panatieri, Sandra Farias, Aoi Masuda, Itabajara da Silva Vaz Junior (orient.) (UFRGS).

Boophilus microplus é um parasita hematófago de bovinos, responsável por grandes perdas econômicas na pecuária por afetar, principalmente, o ganho de peso dos animais. O uso de acaricidas apresenta muitas desvantagens, como a seleção de carrapatos resistentes e a presença de resíduos químicos nos alimentos de origem animal, o que tem levado à busca por alternativas de controle, como o uso de vacinas. Nesse contexto um possível antígeno é a BmCL1, uma cisteína endopeptidase encontrada no intestino do carrapato, que tem como provável função a degradação de hemoglobina e vitelina, indicando sua importância no processo digestivo e no desenvolvimento embrionário do parasito. Objetivo: Sub-clonagem da região codificante da BmCL1 em vetor, pCDNA3, para testes de expressão em células COS-1 e em camundongos. Métodos: Foi realizada a amplificação da região codificante para BmCL1 por PCR e ligação ao vetor pelos sítios das enzimas *Bam*HI e *Xho*I. O clone foi utilizado na transformação de *Escherichia coli* e purificado por lise alcalina. A transfecção transitória das células COS-1 foi realizada utilizando o DNA em lipossomos. Os camundongos receberam 4 doses de 100µg de DNA via intramuscular, com intervalo de 14 dias. As análises das expressões foram realizadas por western blot. Resultados: A análise por enzima de restrição e PCR indicou um clone positivo. Os controles da transfecção indicam funcionalidade do sistema, mas a análise por western-blot não evidenciou a expressão da BmCL1 em células COS-1. O teste realizado com os soros dos camundongos imunizados, não demonstra ativação do sistema imune contra o antígeno. Conclusões: Os resultados obtidos com imunização de camundongos, não demonstraram indução de uma resposta humoral detectável pelos testes. Perspectivas: Padronização de um protocolo para transfecção permanente e a comparação da imunogenicidade de BmCL1 expressa em *E. coli*, sistema procarioto, e em *Pichia sp.*, um sistema eucarioto. (PIBIC).