

## Introdução

Vacinas tem sido propostas como uma promissora alternativa de controle do carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. O conhecimento de proteínas essenciais a fisiologia do carrapato pode indicar novos alvos para o controle desse ectoparasita.

Os transportadores ABC são proteínas transmembrana envolvidas em vários processos metabólicos. Nosso grupo verificou a atuação do transportador ABC em *R. microplus* (RmABC-B1) na detoxificação do heme no intestino desse parasita. A caracterização desta proteína como um imunógeno poderia torná-la um alvo para a elaboração de uma vacina anti-carrapato.

## Objetivo

Os objetivos deste estudo foram clonar a sequência codificante e expressar a forma recombinante de um fragmento antigênico de RmABC-B1.

## Metodologia

**Análise de Antigenicidade** – O índice antigênico foi verificado pelo software Protean Lasergene – DNASTar (Figura 1).

**Clonagem** – A sequência codificante do fragmento de interesse RmABC1(621-pb) foi obtida por RT-PCR, e ligada no plasmídeo vetor pGEM-T.

**Expressão** – A sequência codificante (621-pb) RmABC-B1 foi subclonada em vetor de expressão pET5a (Figura 2). O produto foi confirmado por PCR e hidrólise com enzimas de restrição *EcoRI* and *BamHI* (Figura 3). A cepa de *Escherichia coli* RIL foi transformada com o plasmídeo recombinante e a análise de expressão foi feita por SDS-page e Western Blot com anticorpo anti-cauda de histidina. A forma solúvel e insolúvel da proteína foram expressas depois 16 horas de incubação a 25°C e 37°C respectivamente (figura 4).

**Imunização** – Um coelho foi imunizado com a banda da RmABC-B1 recortada de gel SDS-PAGE.

## Resultados

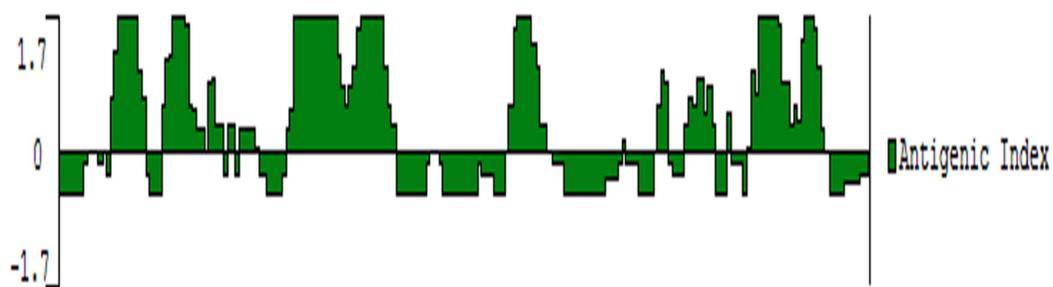


Figura 1 - Análise de Antigenicidade de RmABC1.

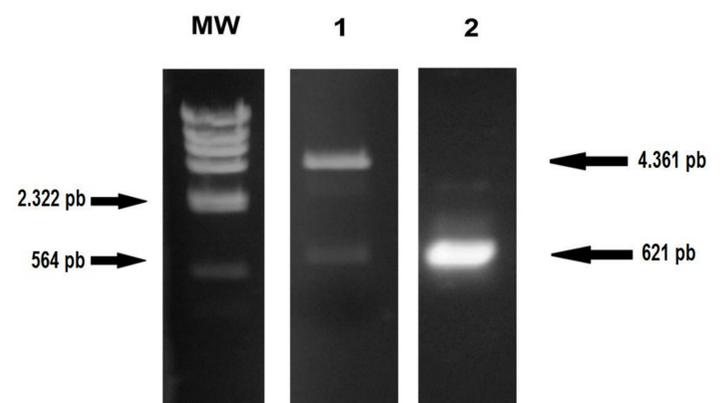


Figura 3 - 1,2 Hidrólise e amplicon submetidos a eletroforese em gel de agarose 0,8%. MW, Peso molecular; 1, pET5a-ABCB1 hidrolizado com *EcoRI* and *BamHI*; 2, amplicon de RmABC1.

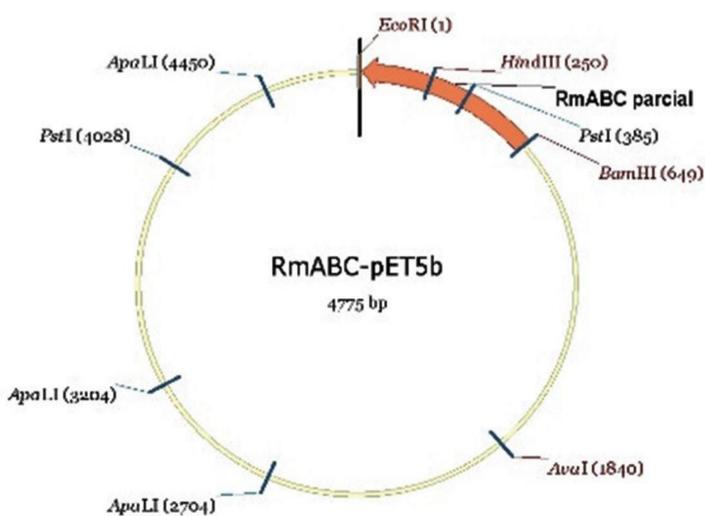


Figura 2 – Mapa do plasmídeo pET5b-ABCB1.

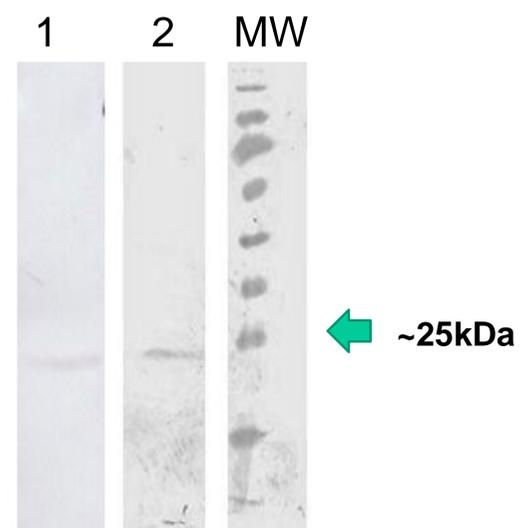


Figura 4 - Western Blot com anticorpo anti-cauda de histidina, forma solúvel(1) e insolúvel (2) de RmABC1 (22,8 kDa).

## Conclusão e Perspectivas

Os testes de imunogenicidade já estão sendo realizados. A purificação da proteína recombinante está em progresso para caracterização da atividade biológica de RmABC-B1.