

337

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO IMUNOLÓGICA DA CALRETICULINA RECOMBINANTE DO CARRAPATO HAEMAPHYSALIS LONGICORNIS. *Luis Fernando Parizi, Itabajara da Silva Vaz, Saiki Imamura, Misao Onuma, Aoi Masuda (orient.)* (UFRGS).

Carrapatos são artrópodos hematófagos que infestam uma grande variedade de espécies e causam importantes perdas em produções comerciais. O uso de vacinas anti-carrapatos tem mostrado ser uma estratégia alternativa promissora para o controle desse parasita quando comparado ao corrente controle por acaricidas. O sucesso dessa estratégia é dependente da caracterização de moléculas envolvidas em etapas fundamentais da fisiologia do carrapato. A calreticulina (CRT) é uma proteína ligadora de cálcio, inibidora do sistema complemento, inibidora de proliferação de células endoteliais, anti-angiogênica e possui função de chaperona em células eucarióticas. O objetivo do presente trabalho foi clonar, expressar e testar a imunogenicidade e antigenicidade da CRT recombinante de *Haemaphysalis longicornis* (rCRT-HI). Por PCR, foi amplificado um amplicon de 1200 pb (CRT-HI) que foi clonado no vetor de expressão pET43a, usando os sítios de restrição Nde I e Hind III. Os clones positivos foram confirmados por PCR, hidrólise com enzimas de restrição e seqüenciamento do DNA. *Escherichia coli* AD494 (DE)+ foi transfectada com o plasmídeo pET43a-CRTHI e a expressão da proteína recombinante foi obtida com a incubação com 1mM de IPTG a 30°C por 16 horas. A purificação da rCRT-HI foi realizada por cromatografia de troca iônica em resina DEAE. A pureza da proteína foi monitorada por SDS-PAGE e a sua identidade foi determinada por western-blot revelado com anticorpos de coelho anti-CRTHI e anticorpos monoclonais anti-histidina. Uma fração enriquecida de rCRT-HI foi observada em eluições de 400mM e 500mM de NaCl. A análise por western blot revelou uma proteína de massa molecular aparente de 55.000. A rCRT-HI purificada mostrou ser imunogênica e antigênica em bovino e camundongos. Testes da capacidade imunoprotetora da rCRT-HI estão em progresso em bovinos.