

452

**RESTAURAÇÃO DA SEQÜÊNCIA COMPLETA DA THAP RECOMBINANTE (TICK HEME-BINDING ASPARTIC PROTEINASE) DO CARRAPATO BOOPHILUS MICROPLUS.** *Paula Cristiane Pohl, Itabajara da Silva Vaz Junior, Aoi Masuda (orient.)* (UFRGS).

O carrapato *Boophilus microplus* é um dos principais ectoparasitas que afetam economicamente a bovinocultura. O método de controle convencional está baseado no uso de acaricidas, no entanto, procuram-se formas alternativas no seu controle, entre elas o uso de vacinas. Os trabalhos estão orientados na identificação de novas proteínas que tenham potencial imunogênico. A THAP, uma proteinase aspártica isolada dos ovos de *B. microplus* é uma das responsáveis pela degradação do vitelo durante a embriogênese. As hemeproteínas presentes no vitelo são a fonte de moléculas heme requeridas para o desenvolvimento embrionário. Sendo assim, a degradação das hemeproteínas é regulada de acordo com a necessidade fisiológica de heme durante a embriogênese. Com o objetivo de recuperar doze nucleotídios iniciais da seqüência codante da THAP não presente no cDNA inicialmente clonado, foram desenhados novos primers para clonagem no vetor de expressão pET43a. Através de PCR foi obtido um produto de amplificação com 1065 pb que foi clonado no vetor e a expressão realizada em *E.coli* AD494(DE) e BL21(DE). A THAP recombinante (THAPr) fusionada a Nus.Tag totalizando 98kDa foi detectada no corpúsculo de inclusão e no sobrenadante do lisado de ambas as cepas. As melhores condições estabelecidas para a produção da THAPr solúvel foram a expressão em BL21(DE) a 23 °C e 0, 5mM de IPTG por 16h. Para a purificação da THAPr foi utilizada cromatografia de afinidade com resina sepharose Ni<sup>+</sup>. A atividade enzimática da THAPr será caracterizada, assim como seu potencial imunoprotetor a fim de avaliar o papel biológico e o uso no controle imunológico do *B.microplus*. Apoio: CNPq, PRONEX, Fapergs.