

069

SUBCLONAGEM E EXPRESSÃO DE UM GENE DE CISTEÍNA PROTEINASE DE *Boophilus microplus* NO VETOR DE EXPRESSÃO EM MAMÍFEROS. Bianca de C. Forte; Gaby Renard; Aoi Masuda (Centro de Biotecnologia do Estado do Rio Grande do Sul)

O carrapato bovino *Boophilus microplus* é um ectoparasita hematófago de bovinos cujo controle é de grande interesse econômico pelas perdas que causa na pecuária. Diferentes antígenos têm sido isolados e testados para o desenvolvimento de uma vacina contra este parasita. Cisteína proteinases estão envolvidas no metabolismo de carrapatos e outros parasitas hematófagos. Um gene de cisteína proteinase (*Bmcl1*) foi obtido a partir de uma biblioteca de cDNA de vários estágios do desenvolvimento do carrapato. Foi observado que este gene é expresso no intestino do carrapato e é capaz de hidrolisar hemoglobina bovina (Renard *et al.*, 2000 *in press*). Neste trabalho purificamos DNA de *Bmcl1* do vetor pBluescript SK clivado com *EcoRI*. O inserto (*Bmcl1*), purificado em gel de agarose, foi subclonado no sítio *EcoRI* do vetor de expressão em mamíferos pCI-neo. Para verificar a posição correta do inserto foram utilizadas as enzimas de restrição *AccI* e *BglIII*. Além disto, foi realizado um PCR com oligonucleotídeos iniciadores específicos do gene para confirmar a identidade do inserto. Células bovinas em cultura serão transfectadas com esta construção para testar a expressão do gene de interesse. A presença da proteína será detectada por imunofluorescência com soro policlonal anti cisteína proteinase. O DNA desta construção será utilizado para vacinar bovinos contra esta cisteína proteinase do *B. microplus*. (FINEP-PRONEX, PADCT, FAPERGS).