

Evento	Salão UFRGS 2020: SIC - XXXII SALÃO DE INICIAÇÃO
	CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2020
Local	Virtual
Título	Produção de soros anti-OATPs para utilização em
	imunoensaios
Autor	ERICK SCHUSTER DE OLIVEIRA
Orientador	ITABAJARA DA SILVA VAZ JUNIOR

SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA UFRGS 2020 - RESUMO

Título do projeto: Produção de soros anti-OATPs para utilização em imunoensaios.

Aluno: Erick Schuster de Oliveira

Orientador: Itabajara da Silva Vaz Júnior

O carrapato Rhipicephalus microplus é um parasito hematófago que se alimenta em bovinos. Para o controle deste parasito, são utilizados, principalmente, acaricidas. Porém, estes perdem a eficácia devido à seleção de carrapatos resistentes. Trabalhos descrevem a relação entre a participação de proteínas transportadoras e a resistência a acaricidas em carrapatos. Este projeto tem como objetivo avaliar o nível de expressão OATPs (polipeptídeos transportadores de ânions orgânicos) em diferentes tecidos, e sua relação à susceptibilidade ou resistência a acaricidas. Para isso, foi planejada a obtenção de soro policional anti-OATP, que será utilizado em imunoensaios relacionados à detecção de OATPs em tecidos do carrapato Rhipicephalus microplus. Inicialmente, foram identificadas seis OATPs em um transcriptoma de Rhipicephalus microplus – CAP-Rm-15258/15259, CAP-Rm-59939/59940/8830, CAP-Rm-44291/44290/43777, Rm-4070, Rm-6697, e Rm-15276. A partir das sequências de DNA codificadoras de OATP, primers foram projetados para amplificação dessas sequências, utilizando cDNA sintetizado a partir de RNA extraído de intestino e ovário de fêmeas totalmente alimentadas de R. microplus. As sequencias CAP-Rm-15258/15259, CAP-Rm-59939/59940/8830, CAP-Rm-44291/44290/43777, Rm-4070, Rm-6697, e Rm-15276 foram amplificadas e clonadas em vetor pGEM T-Easy®. As regiões extracelulares destes foram preditas in silico utilizando o algoritmo TMHMM v2.0. Foram projetados primers para a ORF (open reading frame) das regiões extracelulares correspondentes, que foram amplificados por PCR, e clonados em pET-43a®. Após a clonagem em vetor de expressão dos fragmentos Rm-15276 e Rm-6697, diferentes cepas de Escherichia coli foram transformadas por choque térmico. Foi realizado teste de expressão com os clones de Rm-15276 e Rm-6697, e as amostras foram processadas e submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida e western blot. Não foi possível detectar a expressão da proteína. Novos protocolos de expressão serão testados.

Financiamento: CAPES e CNPq