

335

**SUB-CLONAGEM EM VETOR DE EXPRESSÃO PROCARIOTO DE UMA CISTEÍNO
PROTEINASE DE BOOPHILUS MICROPLUS.** *Joseane Guedes Machado, Itabajara da Silva Vaz,
Raquel Hoffmann Panatieri, Aoi Masuda (orient.) (UFRGS).*

O carrapato bovino *Boophilus microplus* é um artrópode ectoparasito sugador de sangue, que causa severas perdas no rebanho bovino, além de ser transmissor de diversos patógenos. Os métodos de controle utilizados incluem, principalmente o uso de acaricidas. Entretanto esse uso vem acarretando alguns problemas sérios, como a seleção de linhagens resistentes e a presença de resíduos químicos no leite e na carne, mostrando a necessidade de um controle alternativo. As proteinases estão envolvidas em processos vitais nos organismos, sendo então alvos interessantes para o desenvolvimento de drogas antiparasitárias e para imunoprofilaxia. A identificação de antígenos é uma etapa essencial para o desenvolvimento de vacinas. Nesse contexto, a BmCL1, uma cisteíno endopeptidase encontrada no intestino do carrapato, mostrou-se capaz, *in vitro*, de degradar hemoglobina e vitelina, sugerindo assim, uma função importante dessa enzima no desenvolvimento embrionário e no processo digestivo do parasito. O objetivo desse trabalho foi a sub-clonagem da região codificante da BmCL1 em pET23d, vetor de expressão para *E. coli*, para testes de imunização de animais e caracterização enzimática. Para isto, partindo-se do gene da BmCL1 clonado em pBluescript foi realizado PCR, utilizando-se primers específicos para a região codificante do gene. Foi obtido um amplicon, que foi purificado por extração de gel de agarose e clivado com enzimas de restrição; após, o fragmento foi ligado ao vetor pET23d. O produto da ligação foi analisado, por PCR e por análise de fragmento de restrição tendo-se detectado a presença do inserto e dos sítios de clivagem previstos. Um dos clones obtidos foi expresso em *E. coli*. No momento está sendo realizada a padronização da expressão e purificação da proteína recombinante.