



Evento	Salão UFRGS 2017: FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UFRGS - FINOVA
Ano	2017
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Clonagem da ORF, expressão e purificação de uma proteína de ligação à histamina (HBP) do carrapato <i>Rhipicephalus microplus</i>
Autor	MICHELE BARRETO DE FREITAS
Orientador	ITABAJARA DA SILVA VAZ JUNIOR

RESUMO DO TRABALHO - ALUNO DE INICIAÇÃO TECNOLÓGICA E INOVAÇÃO 2016-2017

TÍTULO DO PROJETO: Clonagem da ORF, expressão e purificação de uma proteína de ligação à histamina (HBP) do carrapato *Rhipicephalus microplus*

Aluno: Michele Barreto de Freitas

Orientador: Itabajara Da Silva Vaz Jr

O carrapato *Rhipicephalus microplus* é um ectoparasita hematófago, principalmente de bovinos. O principal método de controle contra os carrapatos é pelo uso de acaricidas, no entanto, esse método seleciona populações resistentes e causa contaminação ao ambiente. Estudos que visam controlar a população desse parasita focam tanto no desenvolvimento de vacinas quanto no conhecimento sobre os mecanismos de modulação do sistema imune do hospedeiro e o entendimento de sua relação com o parasita. As HBPs (*histamin binding proteins*) são proteínas secretadas pela glândula salivar do carrapato durante a alimentação e através da capacidade de se ligarem à histamina modulam o efeito pró-inflamatório da histamina secretada pelo hospedeiro. Dessa forma, o objetivo desse trabalho é a clonagem da ORF, expressão da proteína recombinante HBP e caracterização da sua capacidade de ligação à histamina. Para isso foi realizada a seleção da sequência codificadora da HBP através da análise de um transcriptoma de *R. microplus*. Para a clonagem no plasmídeo pGEM-T, primers foram projetados e foi realizada a extração de RNA de glândula salivar e síntese de cDNA, que posteriormente teve a região ORF amplificada por PCR. A análise do sequenciamento de DNA confirmou a identidade da sequência clonada. A seguir, foram projetados primers para clonagem em vetor de expressão (pET-43a) com adição da sequência de polihistidinas à proteína recombinante. A clonagem em vetor de expressão está em andamento. As análises *in silico* da proteína foram realizadas através da análise de regiões conservadas por meio de comparação por alinhamento múltiplo de diversas HBPs e da predição da estrutura terciária da proteína. Posteriormente à expressão da proteína recombinante, será realizado o ensaio *in vitro* para avaliar a capacidade de

ligação da proteína recombinante à histamina e também para pesquisar a presença de HBP nativa na saliva de partenógenas; a fim de obter mais um dado para confirmar sua possível atividade modulatória do sistema imune do hospedeiro.

Agradecimentos: CNPq, FAPERGS e INCT- Entomologia Molecular