

275

CLONAGEM E CARACTERIZAÇÃO IMUNOGÊNICA DA THAP RECOMBINANTE. *Paula Cristiane Pohl, Itabajara da Silva Vaz Júnior, Aoi Masuda (orient.) (UFRGS).*

O uso de vacinas é um dos métodos mais promissores para o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. No entanto, depende da identificação e caracterização de moléculas importantes na fisiologia desse artrópode. Recentemente, foi descrito que este ectoparasita hematófago obtém suas moléculas de heme da hemoglobina do hospedeiro, sendo o primeiro organismo multicelular descrito incapaz de sintetizar o anel de ferro protoporfirina IX. Nesse contexto, os ovos devem conter todo o heme necessário para constituir o novo organismo. A THAP (tick heme-binding aspartic proteinase) é uma aspártico proteinase isolada dos ovos que participa da hidrólise das hemoproteínas durante o desenvolvimento do embrião. Com o objetivo de caracterizar a imunogenicidade dessa proteína, três clonagens foram realizadas. Um fragmento com a região codificante da seqüência completa (rTHAP completa), um fragmento correspondente aos 170 aminoácidos iniciais (rTHAP amino-terminal) e um fragmento correspondente aos 185 aminoácidos finais da THAP (rTHAP carboxi-terminal) foram obtidos por PCR e clonados no vetor de expressão pET23d. Células *E. coli* BL21 (DE3) RIL foram transformadas com os plasmídeos resultantes. As proteínas recombinantes produzidas na forma insolúvel pela expressão a 37 °C, 1mM de IPTG por 4 horas foram solubilizadas com 8 M de uréia. A antigenicidade das três proteínas recombinantes foi verificada por Western-blot usando soros de bovino e coelho previamente imunizados com THAP nativa. A rTHAP completa e rTHAP carboxi-terminal foram imunoreativas. Estudos adicionais sobre o potencial imunoprotetor da rTHAP estão sendo realizados a fim de definir sua importância no controle do carrapato.