

## CLONAGEM, EXPRESSÃO E CARACTERIZAÇÃO DA PROTEÍNA RICA EM GLICINA DO CARRAPATO *Rhipicephalus microplus*

Lauren Dornelles Dipp, Bruna Ferreira Leal, Natasha Ruschel Soares, Carlos Alexandre Sanchez Ferreira (orientador).

*Laboratório de Imunologia e Microbiologia, Faculdade de Biociências, PUCRS*

### **Resumo**

A criação do gado bovino é essencial para o setor primário, principalmente nos países da Ásia, da África e da América latina (PORTAL ECONOMIA BRASIL, 09/03/11). Vários parasitos, especialmente carrapatos, apresentam efeitos diretos e são vetores de doenças que afetam os bovinos, resultando em danos para a economia do país. Criadores utilizam grandes quantidades de acaricidas químicos para o controle das infestações, prejudicando o meio ambiente e a saúde dos animais, além de serem relatados isolados resistentes a todos os princípios ativos utilizados. (WIKEL e WHELEN, 1986).

Recentemente, muitas moléculas candidatas a comporem uma vacina foram caracterizadas a partir das glândulas salivares dos carrapatos por possuírem propriedades antiplaquetárias (MANS et al. 1998, 2002; MANS e RIBEIRO, 2008), anticoagulantes (HORN et al., 2000; FRANCISHETTI et al., 2002, 2004; CIPRANDI et al., 2006), imunossupressoras (JUCANDELLA et al., 2007; KONNAI et al. 2009) e anti-inflamatórias (KOTSYFAKIS et al., 2006; DÉRUAZ et al. 2008). Estas substâncias são inseridas na corrente sangüínea do bovino durante o ectoparasitismo, modulando o sistema imune e hemostático do hospedeiro a fim de facilitar a hematofagia. Vacinas já produzidas com os antígenos recombinantes Bm86 e Bm95, ambos do intestino médio de *Rhipicephalus microplus*, elicitam respostas baseadas em dos anticorpos prejudicando os carrapatos adultos. Os anticorpos se ligam às células do intestino médio dos carrapatos alimentados, causando danos e extravasamento de sangue para a cavidade abdominal, matando o carrapato ou diminuindo sua fertilidade. Entretanto essas vacinas não produzem respostas de hipersensibilidade, além de aparentemente não bloquearem a transmissão de patógenos presentes no carrapato (TRIMNELL. et al, 2003). Um componente em potencial para compor

uma vacina são as proteínas ricas em glicina, caracterizadas pela presença de repetitivas seqüências de glicina (ZHOU. et al, 2006). Essas moléculas, além de estarem presentes em carrapatos, compõem o citoesqueleto de células eucarióticas, apresentando atividade semelhante à citoqueratina. No carrapato, as proteínas ricas em glicina são encontradas na saliva e liberada quando o cemento, material proteináceo que auxilia na fixação do carrapato no hospedeiro, é formado no momento da alimentação (TRIMNELL. 2003).

Neste trabalho o cDNA de uma proteína rica em glicina da glândula salivar, de fêmeas ingurgitadas da espécie *Rhipicephalus microplus*, foi utilizado para amplificar e clonar em vetor de expressão procariótico a sua região codificante. A expressão da proteína recombinante em *Escherichia coli*, utilizando IPTG como indutor, foi verificada em gel de poliacrilamida 18% e 15% e por Western blot. Com a proteína expressa e posteriormente purificada, faremos testes de hipersensibilidade imediata e tardia e avaliação de seu reconhecimento em bovinos infestados, além da produção de anticorpos policlinais monoespecíficos para a caracterização inicial do seu potencial imunogênico.

## **Bibliografia**

CIPRANDI, A., OLIVEIRA, S., MASUDA, A., HORN, F., TERMIGNONI, C. Boophilus microplus: Its saliva contains microphilin, a small thrombin inhibitor. **Experimental Parasitology**, 2006. Vol. 114, 40-46.

DE'RUAZ, M., FRAUENSCHUH, A., ALESSANDRI, A. L., DIAS, J. M., COELHO, F. M., RUSSO, R. C., FERREIRA, B. R., GRAHAM, G. J., SHAW, J. P., WELLS T. N., TEIXEIRA, M. M., POWER, C. A. and PROUDFOOT, A. E. Ticks produce highly selective chemokine binding proteins with anti-inflammatory activity. **Journal of Experimental Medicine**, 2008. Vol. 205, 2019–2031.

KONNAI, S., NAKAJIMA, C., IMAMURA, S., YAMADA, S., NISHIKADO, H., KPDAMA, M., ONUMA, M., OHASHI, K. Suppression of cell proliferation and cytokine expression by HL-p36, a tick salivary gland derived protein of *Haemaphysalis longicornis*. **Immunology**, 2009. Vol. 126, 209–219.

MANS, B., ANDERSEN, J., SCHWAN, T., RIBEIRO, J. Characterization of anti-hemostatic factors in the argasid, *Argas monolakensis*: Implications for the evolution of blood-feeding in the soft tick family. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, 2008. Vol. 38, 22-41.

PORTAL APEX BRASIL < <http://www.apexbrasil.com.br/portal/> >, 2010.

TRIMNELL, A., DAVIES, G., LISSINA, O., HAILS, R., NUTTALL, P. A cross-reactive tick cement antigen is a candidate broad-spectrum tick vaccine. **Vaccine**, 2003. Vol. 23, 4329–4341.

WIKEL, S.K. and WHELEN, A.C. Ixodid-host immune interaction. Identification and characterization of relevant antigens and tick-induced host immunosuppression. **Veterinary Parasitology**, 1986; v. 20, 149-174.

ZHOU, J., GONG, H., ZHOU, Y., XUAN, X., FUJISAKI, K. Identification of a glycine-rich protein from the tick *Rhipicephalus haemaphysaloides* and evaluation of its vaccine potential against tick feeding. **Parasitol Res**, 2006; 100:77–84