

## 4 5 2 CLONAGEM DE GENES DE CISTEÍNO PROTEINASES DE *Babesia bigemina*.

L.L. Terra, J.C. Cunha, C.T. Mignoni. (Departamento de Bioquímica e--Centro de Biotecnologia, UFRGS).

Cisteíno proteinases são endopeptidases que têm sido identificadas em plantas, animais, bactérias, vírus e microrganismos eucarióticos, incluindo protozoários parasitas. Proteases parecem estar envolvidas na virulência de *Babesia bovis* (WRIGHT, I.G. J. Protozool., 28, 118-20, 1981), um hemoparasita de bovinos. No presente estudo foi utilizada a reação em cadeia da polimerase (PCR) para amplificar um fragmento de DNA de *Babesia bigemina* usando primers baseados na sequência conservada que flanqueia os aminoácidos Cys-25 e Asp-175 do sítio ativo (EAKIN et al. Mol. Biochem. Parasitol., 39, 1-8, 1990). O material foi amplificado em 45 ciclos de reação em cadeia da polimerase, com desnaturação a 94°C, anelamento a 25°C e alongação a 72°C. Os produtos da amplificação foram separados em eletroforese em gel de agarose. Um fragmento amplificado de aproximadamente 500 pares de bases apresentou tamanho correspondente à distância de aminoácidos conhecida entre os sítios conservados de cisteína e asparagina. O material amplificado foi clonado no vetor M13mp18 e está sendo sequenciado pelo método de dideoxi de Sanger para confirmar sua natureza. (FAPEÍ{GS, CNPq, PADCT)