

048

CLONAGEM DO GENE E EXPRESSÃO DA FOSFOENOLPIRUVATO CARBOXIQUINASE (PEPCK) DO CARRAPATO RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS. *Melina Garcia Guizzo, Caroline Pinto de Andrade, Josiana Gomes de Andrade, Carlos Logullo, Aoi Masuda, Itabajara**da Silva Vaz Junior (orient.) (UFRGS).*

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é um ectoparasita bovino de grande importância econômica produtiva. Novos métodos de controle estão sendo investigados, pois os convencionais apresentam altos custos além de contribuírem para a seleção de resistência populacional. Sendo assim, o controle imunológico apresenta-se como alternativa promissora tendo como alvo moléculas envolvidas no metabolismo dos carrapatos. A PEPCK é uma enzima envolvida na gliconeogênese e importante na embriogênese dos carrapatos. O presente trabalho tem como objetivo a clonagem da região codificante do gene e a expressão da proteína PEPCK recombinante em sistema procarioto. Em uma etapa anterior oligonucleotídeos degenerados, derivados de regiões conservadas da PEPCK de diferentes organismos, foram utilizados como primers para amplificar uma seqüência parcial da PEPCK. O produto do PCR foi clonado no vetor pGEM-TEasy e seqüenciado. A análise comparativa dos clones revelou que alguns continham fragmentos de 400-420 bp que codificavam para seqüências parciais de cDNA da PEPCK. Baseado nesta seqüência foram realizados um 3'RACE e um 5' RACE para a obtenção de todo cDNA. No presente trabalho, sintetizamos novos primers para a clonagem da seqüência completa da região codificante do gene da PEPCK. Foi obtido um amplicon de 1908 bp que foi clonado no vetor pGEM-TEasy. Foram isolados quatro clones com inserto de tamanho e sítios de clivagem previstos que foram submetidos ao seqüenciamento a fim de determinar se apresentam a seqüência esperada. Posteriormente será feita a clonagem no vetor pAE para a obtenção da proteína. (Fapergs).