

095

**PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO IMUNOGÊNICA DA THAP RECOMBINANTE.**

*Marcelo Sartori Grunwald, Paula Cristiane Pohl, Itabajara da Silva Vaz Junior, Aoi Masuda (orient.) (UFRGS).*

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é um ectoparasita hematófago de bovinos. Por acarretar danos econômicos, tornou-se alvo de programas de controle nos rebanhos da América do Sul. O controle deste parasita tem sido feito com o uso de acaricidas, que, entretanto, é problemático pelo desenvolvimento de resistência e acúmulo de resíduos químicos na carne e leite. Conseguir formas alternativas para o controle do carrapato, como o uso de vacinas, impõem-se como uma necessidade premente. No entanto, o desenvolvimento de vacinas depende da escolha de proteínas com funções importantes nas vias metabólicas do carrapato, adequados para serem alvo da resposta imunológica bovina, como por exemplo, a protease aspártica THAP (Thick Heme-binding Aspartic Proteinase). Esta enzima está envolvida com a degradação da vitelina, fonte de nutrientes para o desenvolvimento do embrião. Para identificar o potencial imunoprotetor e a porção mais imunogênica da proteína, a região codificante completa e os fragmentos codificantes das porções N-terminal e C-terminal da THAP foram clonados no vetor de expressão pET23d. Células de *E.coli* BL21 (DE3) RIL foram eletroporadas com os três plasmídeos obtidos. A expressão das proteínas recombinantes foi obtida em forma de corpúsculo de inclusão a 37 °C por 4 horas e 1 mM de IPTG, e posteriormente solubilizadas com 8M de uréia. A THAP completa e os fragmentos estão sendo purificadas por cromatografia de troca catiônica em resina Sepharose-SP. Após, camundongos serão inoculados com as proteínas e a resposta humoral será avaliada por Western-blot e Elisa para determinar o potencial e a porção mais imunogênica da proteína. (Fapergs).