

231

**CLONAGEM DO CDNA COMPLETO DE UM TRANSPORTADOR ABC DE RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS.** *Pamela Garcia de Almeida, Paula Cristiane Pohl, Flávio Alves Lara, Aoi Masuda, Itabajara da Silva Vaz Junior (orient.) (UFRGS).*

O controle imunológico do carrapato *R. microplus* tem sido estudado como alternativa ao uso de acaricidas, no entanto, o desenvolvimento de uma vacina depende da identificação e caracterização de moléculas fisiologicamente importantes. Estudos recentes mostram que o parasita obtém suas moléculas de heme à partir da digestão da hemoglobina do hospedeiro. Observou-se que um transportador da família ABC (ATP binding cassette) participa da detoxificação de heme nas células intestinais, transportando-o para o interior de organelas especializadas, evitando possíveis danos oxidativos gerados por um excesso de heme livre. Para melhor caracterizar sua função fisiológica, objetivou-se clonar o cDNA de um transportador ABC a partir do RNA, extraído de células intestinais. Baseados na seqüência de nucleotídeos de um fragmento de um transportador ABC de *R. microplus* obtido a partir de uma biblioteca de cDNA de carrapatos (Guerrero et al., 2005), foram projetados primers para obtenção da seqüência completa a partir da técnica de 5'RACE. Um amplicon com aproximadamente 2000 pb foi obtido e purificado a partir de gel de agarose e introduzido com DNA ligase no plasmídeo pGEM-T. Células *E. coli* XL1-Blue foram eletroporadas com o plasmídeo resultante e selecionadas em meio LB contendo ampicilina, X-Gal e IPTG. O DNA plasmidial de dez clones recombinantes foi extraído e analisado por eletroforese. Os clones que possuíam o tamanho esperado foram submetidos ao seqüenciamento a fim de determinar se apresentam a seqüência 5' desse transportador. A clonagem da seqüência completa do transportador ABC permitirá estabelecer a sua importância fisiológica através da técnica de RNA de interferência e posteriormente sua caracterização imunológica como um possível alvo para o desenvolvimento de uma vacina, ou como alvo para drogas comerciais com atividade inibitória para transportadores do tipo ABC, visando novas ferramentas para o controle do carrapato.