

OBTENÇÃO DA COLECTINA CONGLUTININA RECOMBINANTE DE *Bos indicus*

Ferra, J. C. (1); Lopes, S. P. (1); Fragoso, S. (2); Araújo, F. R. (3); Madruga, C. R. (3). (1) Médica Veterinária, Bolsista CNPq/FUNDECT, ferrajanine@yahoo.com.br. (2) Pesquisador, Instituto de Biotecnologia do Paraná. (3) Pesquisador, Embrapa Gado de Corte.

As colectinas representam um subgrupo das lectinas do tipo C, que são proteínas extracelulares e ligam-se a uma grande variedade de carboidratos através de um sistema estritamente cálcio-dependente. A conglutinina bovina pertence a esse grupo de proteínas séricas. A síntese dessa proteína é realizada nos hepatócitos, mas pode ser encontrada nas células dendríticas do baço, tonsila e nódulos linfáticos, macrófagos do pulmão e timo, células da glia, células endoteliais, glomérulos renais e capilares sinusóides do córtex adrenal. Atuam como importantes elementos celulares ou humorais da imunidade inata na eliminação de organismos invasores, como fungos, bactérias, vírus e protozoários patogênicos, agregando antígenos opsonizados por anticorpos e componentes do sistema complemento. O objetivo desse trabalho é a obtenção de conglutinina recombinante de *Bos indicus*. Para tal, foi coletado em frigorífico, um fígado de um bovino Nelore, e dele extraíu-se o RNA total para produção de DNA complementar (cDNA). A reação da polimerase em cadeia (PCR), desenvolvida para ampliação do fragmento do gene responsável pela produção de conglutinina, foi realizada da seguinte maneira: Tampão 10X, MgCl₂ (50mM), dNTP's (200µM) e primers desenhados pelo programa DNASTar: EP31/50 F (5'-GCC-AAT-GCC-TGT-ACC-CTG-GTT-ATG-T-3') e EP31/50 R (5'-GGC-CTG-GGA-AGC-CCT-GTA-TG-3') a 10pmol/µl, a Taq DNA Polimerase (2,5U) e o cDNA obtido anteriormente. Submetido ao termociclador programado em 94°C por 3 minutos, 35 ciclos a 94°C por 30 segundos, 56°C durante 30 segundos e 72°C por 1 minuto, com uma extensão final de 72°C por 7 minutos. Após os resultados avaliados por eletroforese em gel de agarose 1%, o produto da PCR foi submetido a reação de clonagem utilizando plasmídeo pTrcHis-TOPO e transformado em células TOP 10. Para avaliação da clonagem foi realizada uma PCR de colônia para identificação dos clones. Esses clones possibilitarão a produção da conglutinina recombinante e o sequenciamento desse gene. (Projeto financiado pela FUNDECT).