



**SELEÇÃO DE EPÍTOPOS IMUNOGÊNICOS PARA CONSTRUÇÃO DE UM ANTÍGENO VACINAL QUIMÉRICO  
CONTRA *Amblyomma sculptum***

**Maycos Luiz Anjos da Silva<sup>1\*</sup>, Izabela Cosso Tavares Ribeiro<sup>2</sup>, Maria Luiza Chaves Oliveira<sup>1</sup>, Cristielen Dantas Colen<sup>2</sup> e Ricardo Nascimento Araujo<sup>3</sup>.**

<sup>1</sup>Discente no Curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil – \*Contato: maycosufmg@gmail.com

<sup>2</sup>Discente no Programa de Pós-Graduação em Parasitologia Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil

<sup>3</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil

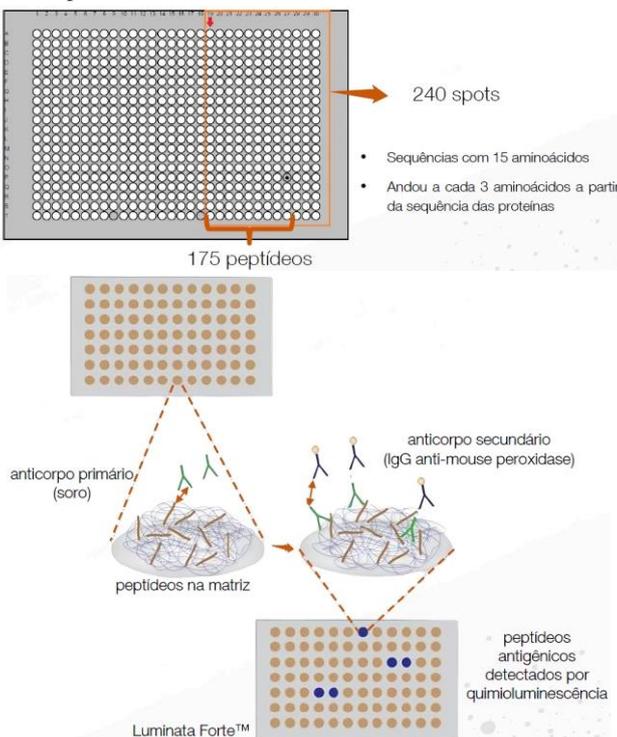
**INTRODUÇÃO**

*Amblyomma sculptum* é o carrapato de maior importância médica no Brasil, sendo o principal vetor da bactéria *Rickettsia rickettsii*, causadora da febre maculosa brasileira<sup>3,8</sup>, além de ocasionar prejuízos na pecuária. O controle deste ectoparasita tradicionalmente se baseia no uso de acaricidas químicos<sup>6</sup>, os quais podem gerar impactos ambientais adversos<sup>7</sup>. Em busca de métodos de controle mais eficazes e seguros, pesquisas anteriores testaram quatro proteínas, rAsKunitz (K), rAs8.9kDa (8.9), rAsBasicTail (BT) e rAsQuimera (Qui), evidenciando eficácia vacinal superior a 80% contra fêmeas de *A. sculptum*<sup>1</sup>. Na tentativa de obter um antígeno único com eficácia superior aos testados anteriormente, este estudo teve como objetivo identificar e selecionar as regiões mais antigênicas das proteínas K, 8.9, BT e Qui e montar um único antígeno vacinal contra o *A. sculptum*.

**METODOLOGIA**

Foram sintetizados 175 peptídeos (Fig. 1), correspondentes a diferentes regiões das proteínas-alvo, por meio de um sintetizador automático de peptídeos (ResPep SL, Intavis), e depositados em membranas de nitrocelulose. Essas membranas foram hibridizadas com soros de camundongos previamente imunizados com as proteínas recombinantes, permitindo a identificação das regiões com maior reatividade antigênica.

A partir dos dados obtidos, selecionou-se um conjunto de 22 peptídeos reagentes para a montagem da proteína quimérica, denominada rAsQuimeraII. Nessa construção, os peptídeos foram unidos utilizando espaçadores (GSGSG) e uma cauda de histidina para facilitar a purificação. O gene correspondente foi clonado no plasmídeo pET28a-TEV e a expressão foi realizada em *Escherichia coli* BL21. A proteína recombinante foi, então, purificada por meio de cromatografia de afinidade para histidina e sua expressão validada por SDS-PAGE e Western Blotting com anticorpos anti-His.

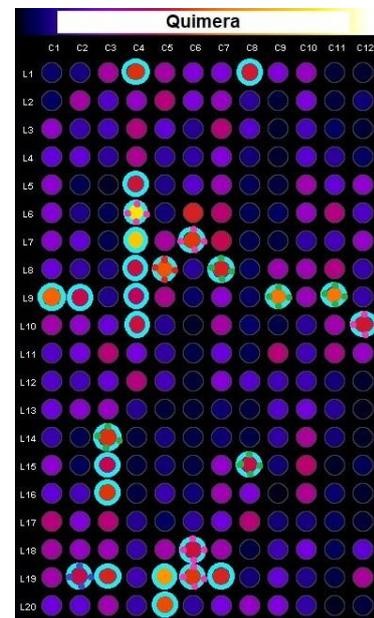


**Figura 1:** Esquema da síntese de peptídeos em membrana de nitrocelulose.

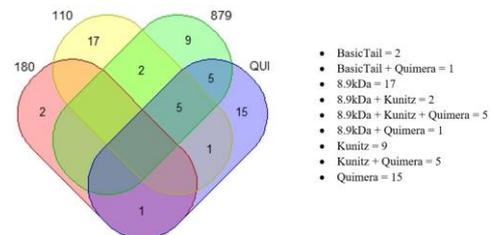
**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Dos 175 peptídeos sintetizados, 57 demonstraram reatividade com os soros dos camundongos imunizados. Destaca-se que:

- O antissor da proteína BT reagiu com 3 peptídeos;
- O antissor da rAsQuimera (Qui) reconheceu 27 peptídeos (dos quais 12 apresentaram reatividade cruzada com outras proteínas);
- Os antissoros das proteínas rAs8.9kDa (8.9) e rAsKunitz (K) reagiram, respectivamente, com 25 e 21 peptídeos.

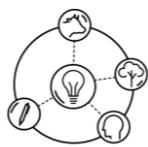


**Figura 2:** Etapas para seleção de regiões antigênicas das proteínas alvo. A – Imagem da membrana de nitrocelulose no software que avalia a intensidade dos spots.



**Figura 3:** Número de spots reconhecidos pelos soros.

A partir dessas reatividades, foram selecionadas 22 sequências que, intercaladas por espaçadores GSGSG e finalizadas com uma cauda de histidina, formaram a proteína quimérica rAsQuimeraII. Esta proteína possui 570 aminoácidos (Fig. 4), peso molecular estimado de 57,3 kDa e ponto isoelétrico de 9,73.



MGHHHHHNNLYFQGHMASTTGTQETKPTTVATTGSSGSGTRCKITHIPGVTEGSS  
GSGRCKITHIPGVTEGVCSSGSGSELEQHYEAMKARDPKGSSGSGVPPPAPATPK  
RANMGSSSGSPPLIEPTFAHDPRKANSSGSGTTTTLTPPGPAKSNPSSGSGIVRGCF  
PKDAQSSVSSGSGGHERPSIERWYFDARGSSGSMTCSDHSDPEGACRSGSSG  
VTVENGACIFERNLTPDGESSGSGTEGVCDLLGMEGCHPPNDTFARRFMKFWSSG  
SGKFWWKDNTPTTGTQETKPTTVATTTTTGSSGSGYKRPKFCYAKAKEGQCQGH  
PSIERSSGSGTKRPKTSKKNKTKTSTKPTTEFSWSSGSGATTITTTQSSSTTKSKSTK  
PKKTKKTKSSGSGKSTKPKKTKTKRPKTKRPKTSKKNKTKSSGSGGKEQQSPSR  
PRPACTAGSSGSGKRLIWEADHERKEAMLSSGSGRNFVDPGCRVQWTPDGVYPQC  
CPRQVSSGSGTCYAAARREVNATLCRNFVDPGCRVSSGSGPDGVYPPCCPRQVC  
DGTNLE

Figura 4: Sequência da rAsQuimeraII.

Os testes de expressão mostraram que a rAsQuimeraII foi produzida com sucesso no sistema heterólogo utilizando *E. coli*, conforme evidenciado nos ensaios de SDS-PAGE (Fig. 5) e Western Blotting (Fig. 6). A recombinante foi usada com antígeno em uma formulação vacinal a fim de testar sua eficácia na proteção de hospedeiros contra o carrapato *A. sculptum*. Após teste vacinal inicial, a recuperação das ninfas foi de 66,6% e 70% nos grupos G1 (PBS) e G2 (PBS+AIOH), respectivamente, 57,5% em G3 (8.9+AIOH) e 62,5% em G4 (Quimera II+AIOH). Não houve diferença no tempo de alimentação das ninfas, mas as médias de peso dos grupos G1 e G3 foram significativamente maiores que a de G4.

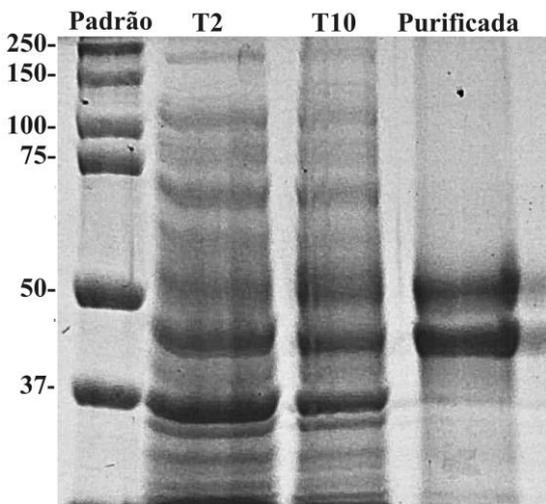


Figura 5: PAGE do clone de *E. coli* expressando a rAsQuimeraII (T2- 2h e T10- 10h) e após purificação em coluna de afinidade (Purificada).

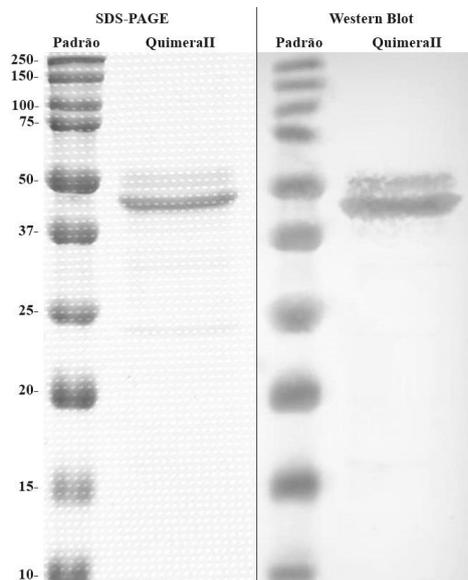


Figura 6: Western Blotting da rAsQuimeraII com anticorpos Anti-poli His

Esses resultados demonstram a viabilidade da produção da proteína recombinante e sugerem que a estratégia de composição por múltiplos peptídeos antigênicos é promissora para o desenvolvimento de novas abordagens no controle de *A. sculptum*.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A técnica de spot síntese, seguida de hibridização com antissoros, mostrou-se eficaz para a identificação de 22 peptídeos com alta reatividade antigênica dentre os 175 testados. A montagem e expressão da proteína quimérica rAsQuimeraII foram validadas com sucesso, estabelecendo uma base para o desenvolvimento de estratégias vacinais contra o carrapato *Amblyomma sculptum*. Apesar dos resultados vacinais iniciais indicarem proteção moderada, os dados obtidos fornecem subsídios relevantes para otimizações futuras e para o aperfeiçoamento das formulações vacinais.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COSTA, Gabriel Cerqueira Alves. *Identificação e avaliação de eficácia de antígenos vacinais contra o carrapato estrela (Amblyomma sculptum)*. 2019. 113 f. Tese (Doutorado em Ciências – Área de concentração: Entomologia) – Programa de Pós-graduação em Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019.
2. FRANK, R. *The SPOT-synthesis technique: synthetic peptide arrays on membrane supports—principles and applications*. *Journal of Immunological Methods*, v. 267, n. 1, p. 13-26, 2002.
3. PAULA, L. G. F. de et al. *Dinâmica sazonal de Amblyomma sculptum: uma revisão*. *Vetores de parasitas*, v. 15, p. 193, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05311-w>.
4. MARTINS, Thiago Fernandes. *Estudo do complexo Amblyomma cajennense no Brasil*. 2014. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/T.10.2014.tde-24072014-144543>.
5. BORGES, L. M. F. et al. *Horse resistance to natural infestations of Anocentor nitens and Amblyomma cajennense (Acari: Ixodidae)*. *Veterinary Parasitology*, v. 104, n. 3, p. 265-273, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00625-2](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00625-2).
6. BARROS-BATTESTI, D. M. *Ectoparasitofauna brasileira de importância veterinária*. Jaboticabal: E-Book – Diagramação de Livros, Revistas e Jornais ME, 2024.
7. CARDOSO, E. R. N. et al. *Susceptibility of Amblyomma sculptum, vector of Rickettsia rickettsii, ticks from a national park and an experimental farm to different synthetic acaricides*. *Pathogens*, v. 12, p. 1304, 2023.
8. LABRUNA, M. B. *Ecology of Rickettsia in South America*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, New York, v. 1166, p. 156-166, maio 2009.

APOIO:

