



Superexpressão de alérgeno mutante de *Ricinus communis*, Ric c 3.

Mariana Giarola Benedito Bartholazzi, Thaís Pacheco Soares, André de Oliveira Carvalho, Olga Lima Tavares Machado

As proteínas alergênicas presentes na mamona (*Ricinus communis* L.) são isoformas de Albuminas 2S (Ric c 1 e Ric c 3) que têm função de reserva e defesa. Estes alérgenos da mamona apresentam reação cruzada com alérgenos de outras fontes. Seis epitopos ligantes de IgE foram identificados nessas isoformas, sendo que em todos, resíduos de ácido glutâmico estão envolvidos no sítio de reconhecimento com IgE. Estudos *in silico* indicaram que mutações em resíduos de ácidos glutâmicos específicos por resíduos de leucina, pode reduzir a alergenicidade dessas isoformas. O objetivo deste trabalho é a produção de alérgenos recombinantes com mutações nos epitopos alergênicos específicos na isoforma Ric c 3. Para a obtenção da proteína recombinante, inicialmente foi feito o desenho do gene sintético contendo a região codificante de Ric c 3 com as mutações nos resíduos pontuais. Posteriormente, o gene sintético foi ligado ao vetor de expressão pET-32 EK LIC através da técnica de PCR. A transformação bacteriana foi feita em uma cepa de superexpressão *E. coli* linhagem Rosetta-gami. Para ativação do processo de indução da tradução da proteína mutante recombinante (Ric c 3 mr), foi adicionado 1mM de IPTG (Isopropil- β -D-galactosídeo) às culturas. As que não possuíam o IPTG foram avaliadas como controle. A purificação da fração recombinante foi por Cromatografia de Fase Reversa em coluna C18 em sistema HPLC. O material recombinante coletado foi submetido à clivagem enzimática com enteroquinase (EK) para liberação da cauda de histidina e uma nova purificação foi realizada nas mesmas condições citadas. A sobreposição dos perfis cromatográficos, amostra padrão de albuminas 2S, extrato bacteriano e repurificação com clivagem com EK indicou o provável pico referente à fração Ric c3. Esta foi isolada e a expressão foi confirmada por, SDS-PAGE, *Immunoblotting* e sequenciamento N-terminal. Acreditamos que a produção de um recombinante hipoalergênico abrirá caminhos para novas abordagens terapêuticas de imunização para indivíduos que sofrem com processos alérgicos.

Palavras-chave: *Ricinus communis*, Ric c 3, Alérgenos mutantes recombinantes.

Instituição de fomento: CNPq, FAPERJ, UENF.