XII Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica
V Congresso Fluminense de Pós-Graduação
Ciência para o Desenvolvimento Sustentável

Expressão heteróloga, isolamento, caracterização estrutural e imunológica de Ric c 3 mutante, proteína derivada de um importante alérgeno de *Ricinus communis*

Mariana Giarola Benedito Bartholazzi[1], André Oliveira Carvalho[2], Olga Lima Tavares Machado[1]

[1] Laboratório de Química e Função de Proteínas e Peptídeos – CBB-UENF,
[2] Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismos – CBB-UENF, RJ, Brasil

Encontrados no ambiente ou nos alimentos, os alérgenos têm sido amplamente estudados, e cada vez mais proteínas recombinantes são produzidas para o uso em imunoterapias específicas. Os derivados recombinantes hipoalergênicos ganham destaque pois minimizam os efeitos adversos durante a imunoterapia. Além disso, a caracterização de complexos antígeno-anticorpo pela técnica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) tem se mostrado útil, principalmente no "*design*" de vacinas. Os principais alérgenos de mamona já foram caracterizados e os possíveis epítopos ligantes de IgE foram identificados e demonstramos a presença de reação cruzada entre os alérgenos de mamona, Ric c 1 e Ric c 3, com alérgenos de diversas fontes. A produção de hipoalérgenos derivados de Ric c 3, é, portanto, promissora para a Imunoterapia. Embasados nisso, nosso objetivo é produzir uma mutante hipoalergênica derivada de Ric c 3 (mrRic c 3) tanto em meios que permitam caracterizações bioquímicas e de hipoalergenicidade, bem como em condições que permitam a determinação da estrutura tridimensional por RMN. Recombinantes para caracterização de atividade alergênica foram produzidas e mutações em resíduos de ácido glutâmico presentes em epítopos ligantes de IgE reduziram a alergenicidade, onde observamos através de ensaio de desgranulação de mastócitos, que as células isoladas de ratos Wistar incubados com mrRic c 3, desencadearam apenas 22% de desgranulação celular, valor próximo ao controle negativo, contra 70% de desgranulação observada no controle positivo (pool de Albuminas 2S – Ric c 1 + Ric c 3). Para a caracterização por RMN, o gene sintético contendo a região codificante de Ric c 3 com mutações pontuais foi construído e ligado a um vetor de clonagem por técnicas de PCR, obtendo como produto o plasmídeo denominado mRic c 3-pET. Colônias de *E. coli* Rosetta-gami B (DE3) serão transformadas com mRic c 3-pET, incubadas em meio Mínimo M9 marcado e posteriormente tratadas com IPTG para a tradução da proteína. Dados de RMN serão adquiridos através dos espectrômetros Bruker Avance DRX 800 MHz em parceria com o Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear Jiri Jonas do Instituto de Bioquímica Médica da UFRJ em colaboração com a Drª Ana Paula Canedo Valente. Pretende-se ainda isolar IgE

humana e estudar o complexo intermolecular antígeno/anticorpo por técnicas de RMN para mapear os sítios IgE-*binding* antes e após mutação.

Palavras-chave: *Ricinus communis*, Hipoalérgenos, Imunoterapia, RMN

Instituição de fomento: FAPERJ, CAPES, CNPq, UENF